جامعة تشرين
كليـــة الزراعة
قســـم المحاصيل

تقييم بعض الطرز الوراثية من الأقماح السورية (السداسية والرباعية) باستخدام معلمات بيوكيميائية وجزيئية مختلفة

رسالة أعدت لنيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية

إعداد
المهندسة الزراعية سها عبد الرؤوف أشتر
ماجستير في الهندسة الزراعية، تخصص محاصيل حقلية

١٤٢٩ هـ/٢٠٠٨ م

جامعة تشرين
كليـــة الزراعة
قســـم المحاصيل

تقييم بعض الطرز الوراثية من الأقماح السورية (السداسية والرباعية) باستخدام معلمات بيوكيميائية وجزيئية مختلفة

رسالة أعدت لنيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية

إعداد
المهندسة الزراعية سها عبد الرؤوف أشتر
ماجستير في الهندسة الزراعية، تخصص محاصيل حقلية

إشراف

الدكتور محمد معلا
أستاذ الوراثة وتربية النبات
كلية الزراعة
جامعة تشرين

الدكتور نزار ميرعلي
مدير بحوث قسم البيولوجيا الجزيئية
والتقانة الحيوية
هيئة الطاقة الذرية

١٤٣٠ هـ /٢٠٠٩ م

المقدمـــة

الأهمية الاقتصادية:

يعتبر القمح *Triticum Spp.* المحصول الأكثر أهمية من الناحية الاقتصادية والمحصول الحبي الاستراتيجي الأول لمعظم سكان العالم. فهو يزود العالم بـــ ٥٥% من إجمالي الكربوهيدرات، و٢٠% من السعرات الحرارية الغذائية المستهلكة. كما يحتل 17% من المساحة المزروعة، مؤمناً الغذاء لأكثر من بليوني نسمة أي حوالي 40% من عدد السكان. وقد سبق إنتاجه كل محاصيل الحبوب الأخرى عالمياً بما في ذلك الأرز والذرة ليصبح بلا منازع من أهم محاصيل الحبوب في العالم كونه يزرع ضمن مدى واسع من الاختلافات البيئية. على الرغم من زيادة الإنتاج الثابتـــة للقمح خلال العقود الأربعة الأخيرة، إلا أنه لوحظ وجود انخفاض في سوق الأسهم بلغ حده الأدنى خلال السنوات الأخيرة بدءً من عام ١٩٤٩، وهذا ما أدى بالنتيجة لارتفاع أسعاره من ١٧ إلى 37 سنتاً/كغ فـــي السنة الأخيرة http://www.planetark.com/dailynewsstory.cfm/newsid//story.htm ولمواجهة هذا الارتفاع، ولحل مشكلة زيادة الاستهلاك الغذائي البشري للقمح، كان لابد من زيادة الإنتاج الحبي بمعدل سنوي مقداره 2%، ودون أية زيادة أفقية للمساحات المزروعة (Gill, 2004). ويتطلب هذا التحدي الكبير فهماً أعمق وأوسع وأكثر جدة لبنية وتشكيل ووظيفة المجموعة الصبغية للقمح. ويعتبر الفهم والمعرفة الصحيحة للتركيب الوراثي ذو فائدة كبيرة لوراثة وتربية القمح. كما وأن زيادة متطلبات العالم نحو إنتاج الغذاء، كان هو الدافع لتبني طرق جديدة أسرع، وأكثر فعالية وموثوقية لتطوير وإنتاج أصناف محسنة، ولزيادة الغلة كاستخدام المؤشرات الجزيئية في دراسات تقييم التنوع الوراثي، وتعريف الأصناف وتحديد القرابة الوراثية فيما بينها ورسم الخرائط الوراثية.

تصنيف القمح:

ينتمي القمح *Triticum Spp.* إلى فصيلة النجيليات *Gramineae* (Poaceae) التي تضم بدورها معظم نباتات المحاصيل كالشعير *Hordeum vulgare* L. والشوفان *Avena sativa*

L. والشيلم Secale *cereal* L. والذرة *Zea mays* L. والأرز *Oryza sativa* L. وتتألف قبيلة *Triticeae* من ١٥ جنساً و٣٠٠ نوع بما فيها القمح والشعير.

المملكة	Plantae
Division:	Magnoliophyta
الصف	Liliopsida
الرتبة	Poales
فصيلة	Poaceae
Subfamily:	Pooideae
قبيلة	Triticeae
تحت القبيلة	Triticinea
الجنس	***Triticum***

التصنيف الخلوي للقمح:

تتميز أنواع الجنس *Triticum* بوجود ثلاثة مستويات مختلفة العدد الصبغي، فهي إما ثنائية (2n=2x=14)، أو رباعية(2n=4x=28)، أو سداسية(2n=6x=42). وتشكل قبيلة *Triticeae* مجموعة من الفصيلة *Poaceae* (*Gramineae*) والتي تتميز بوجود السنبلة المركبة. ومؤخراً أضيف لها صفة السنيبلات المضغوطة بعصافات الحبوب والعدد الصبغي الأساسي X=7 (Miller, 1987). تضم القبيلة *Triticeae* تحت القبيلة *Triticinae* والتي تضم أجناساً مختلفة مثل *Aegilops* L., *Secale* L., *Agropyron* Gaertn., *Triticum* L. و *Haynaldia* Schur (Morris and Sears, 1967).

أما الجنس *Triticum* L. فيضم عدداً من الأنواع المزروعة كالقمح الطري (*T. aestivum*) والقمح القاسي (*T.turgidum* var. *durum*)، والنوع emmer (*T. dicoccom*) والنـــوع einkorn (*T. monococcum*) (Morris and Sears, 1967).

يقسم القمح المزروع بناءً على عدد الصبغيات إلى ثنائي الصيغة الصبغية ويحتوي على ١٤ صبغياً، ورباعي الصيغة الصبغية ويحتوي على ٢٨ صبغياً، بينما يحتوي سداسي الصيغة الصبغية على ٤٢ صبغياً. تحتوي الأقماح المزروعة الثنائية (*T. monococcum* L.) على مجموعة صبغية أساسية (Genome) واحدة، بينما تحتوي

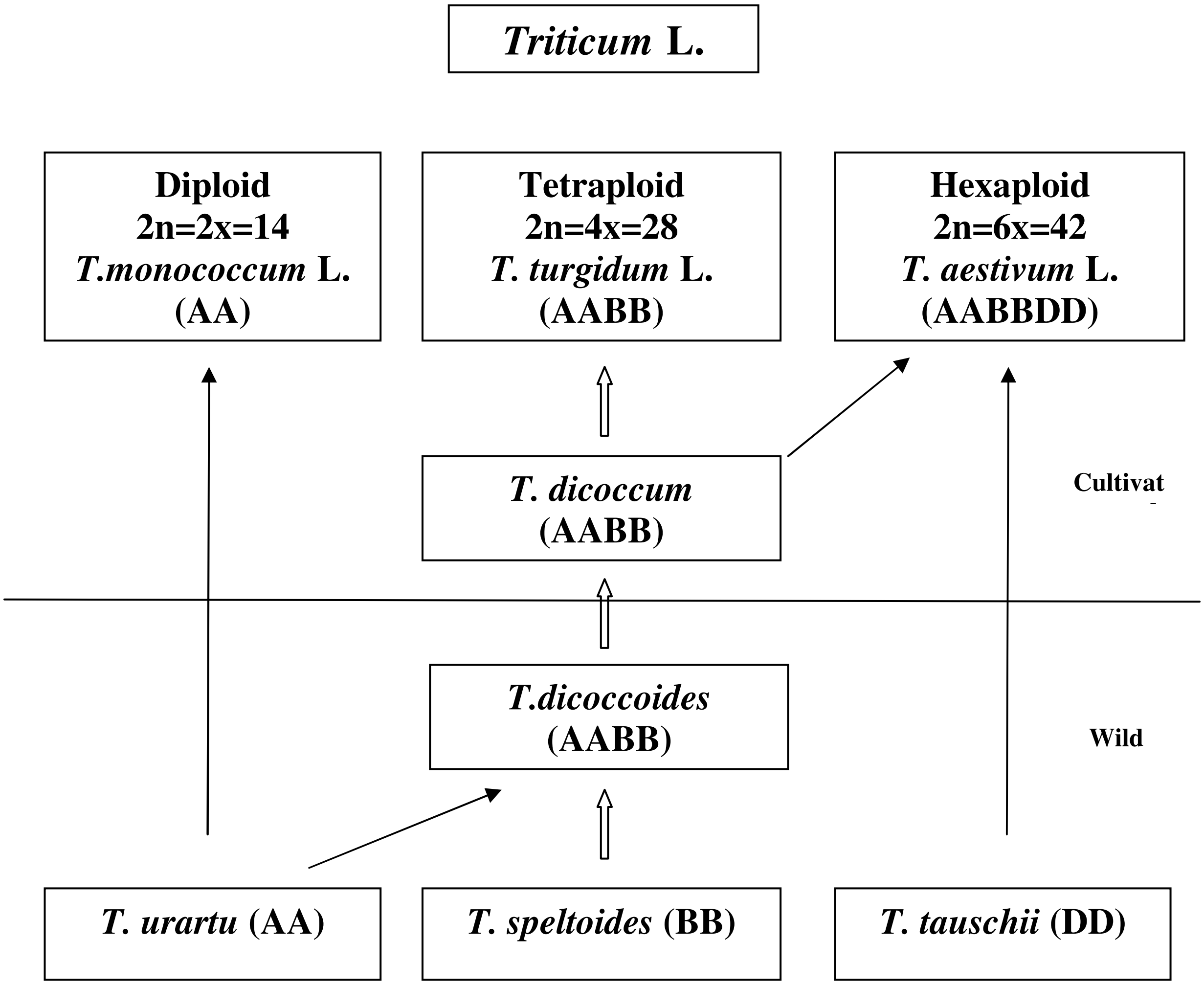
الرباعية (*T. turgidum* L.) على مجموعتين أساسيتين، في حين تحتوي السداسية (*T. aestivum*) على ثلاث مجموعات. وتتألف كل مجموعة من ٧ أزواج من الصبغيات. فالمجموعة A هي المشتركة ضمن كل الأنواع (الثنائية والرباعية والسداسية)، بينما المجموعة B موجودة ضمن الأنواع الرباعية والسداسية. أما المجموعة D فهي متفردة ضمن القمح السداسي.(McFadden and Sears, 1946) ويعتقد أن النوع *T. monococcum* L. var. *urartu* الثنائي الصيغة الصبغية (2n=14, AA) هو المانح للمجموعة الجينومية A. بينما يعتبر النوع البـــري الرباعي *T. dicoccoides* (2n= 28, AABB) نتيجة للتهجين بين النوع الثنائي *T.urartu* (AA) ونوع آخر ثنائي غير معروف شبيه بـــ *Aegilops* (*T. speltoides*) كما ذكر Miller, (1987). أما بالنسبة للقمح المزروع (*T. aestivum* L. em.thell.) سداسي الصيغة الصبغية 2n= 42 والمحتوي على المجموعات الصبغية AABBDD والذي يعود تاريخ نشوئه إلى 10 آلاف عام فيفترض أنه قد نتج عن التهجين مابين طراز أو عدة طرز رباعية (*Tritiucm turgidum* L. 2n=28, AABB) والطراز الثنائي *Triticum tauschii* (Coss.) Schmal. (syn. *Aegilops squarrosa* L.) المحتوي على المجموعة الصبغية DD (Kihara, 1944; McFadden and Sears, 1946) والشكل (١) يظهر هذه العلاقات.

المجموع الصبغي للقمح:

يبلغ الطول الجزيئي للمادة الوراثية DNA للقمح السداسي (*T. aestivum* L.) أحادي الصيغة الصبغية والمكون من ثلاثة مجموعات صبغية 1.7×10^{10} bp أو زوجاً من القواعد الآزوتية. وهو أضخم ١٠٠ مرة من المجموع الصبغي لنبات *Arabidopsis* و ٤٠ مرة من المجموع الصبغي لنبات الأرز و٦ مرات للمجموع الصبغي لنبات الذرة (Bennett and Smith, 1976; Amuruganathan and Earle, 1991). كما ويتألف ٨٠% من المجموع الصبغي للقمح من قطع DNA متكررة (Repetitive DNA sequences) (Smith and Flavell, 1974). ويبلغ متوسط طول صبغي القمح حوالي ٨١٠ MB أي أكبر ٢٥ مرة من صبغي نبات الأرز (جدول ١). ويعود سبب ضخامة حجم المجموع الصبغي للقمح لكونه يتألف من ثلاث مجموعات صبغية وهي A, B, D (Talbert et al., 1998)، ولاحتواء٨٥% منه على سلاسل متكررة (Moore et al., 1993). يتراوح عدد المورثات

الموجودة في النباتات الراقية مابين ٢٥٠٠٠ – ٤٢٠٠٠ مورثة (Miklos and Rubin, 1996)، أما في القمح فيبلغ عدد المورثات المتحكمة بالشكل المظهري حوالي ٣٠٠٠٠ مورثة تم تحديد مواقع بضع مئات منها ضمن الخريطة الوراثية.

إن المورثات هي الوحدات المتحكمة بالمواصفات المختلفة للنبات وتكون متوضعة على قطع محددة من كل صبغي. ويعرف (King and Stansfield, 1990) المجموع الصبغي أو الجينوم بأنه مجموع كامل المورثات المحمولة على الخلايا الجنسية المفردة (Single gamete). إن ترتيب التسلسل النيوكليوتيدي لكامل المجموع الصبغي قد تم تحديده لبعض الأنواع النباتية كالنوع *Arabidopsis thaliana* والأرز وذلك لتحديد أماكن مورثات معينة على الصبغي حيث أن معظم الباحثين يستخدمون المؤشرات الوراثية للقيام بهذه الوظيفة.



الشكل (١): تطور القمح المزروع (بحسب Miller, 1987).

جدول (١): مقارنة مابين المجاميع الصبغية لكل من الذرة والشعير والقمح الطري والأرز وذلك من حيث كمية وطول جزيء DNA ضمن الخلية، النسبة المئوية للسلاسل المتكررة، الخريطة الوراثية وعدد الصبغيات.

النوع	كمية DNA ضمن الخلية/Picograms	طول جزيء DNA Bp	% للسلاسل المتكررة	الخريطة الوراثية (cM)	عدد الصبغيات
Arabidopsis thaliana	0.4	**0.07x10^9**	37	501	5
الأرز	-	**0.45x10^9**	66-58	1.700	12
الشعير	13.4	5 x10^9	76-70	1.096	7
الذرة	11	**2.7x10^9**	78	**1.500-1.400**	10
القمح الطري	36.2	17x10^9	85-83	3.500	7x3 (ABD)

بيكوغرام (Picogram) = $١٠^{-١٢}$ غ =0.965 X 109 bp

المؤشرات الوراثية

تعرف المؤشرات الوراثية بعدة تعريفات:

- أولاً: هي قطعة محددة من DNA ذات مكان محدد على المجموع الصبغي (Wikipedia-the free encyclopedia/genetic_marker).
- ثانياً: هي عبارة عن مؤشر مرتبط بمورث ذات أثر مورفولوجي معروف، ويمكن تمييزه بحيث يمكن استخدامه لتحديد هوية فرد أو خلية تحمل هذه المورثة، أو يستخدم

كمسبر لتعليم نواة أو صبغي أو موقع وراثي (Locus) وذلك بحسب تعريف King and Stansfield, (1990).

تقسم المؤشرات الوراثية إلى ثلاثة أنواع، فهي إما مواصفات تُرى وتلاحظ بالعين المجردة، كالمواصفات المورفولوجية والزراعية (Morphological and agronomic traits) أو أنها نواتج تعبير مورثي معين كالمؤشرات البيوكيميائية (Biochemical markers)، أو تلك التي تعتمد على تجارب DNA وتسمى بالمؤشرات الجزيئية (Molecular markers). لقد انبثقت فكرة استخدام المؤشرات الوراثية أول مرة في أوائل القرن الماضي من قبل(1932) Sax, و(1933) Wexselsen,. إلا أن تطور أنظمة الرحلان الكهربائي وتقنيات الأيزوأنزيمات (Market and Moller, 1959) والمؤشرات الجزيئية (Botstein et al., 1980; Nakamura et al., 1987; Welsh and McClelland, 1990; Williams et al., 1990; Adams et al., 1991; Caetano-Anolles et al., 1991; Vos et al., 1995) قد أدت إلى تنامي وتسارع فهم واستيعاب كثير من الباحثين للعلوم البيولوجية.

المؤشرات الجزيئية في تقييم التنوع الوراثي:

أدى التطور المتسارع في تقنيات البيولوجيا الجزيئية في العقدين الماضيين لحدوث ثورة على مستوى التحليل الوراثي لنباتات المحاصيل،حيث كان هناك تقدم جوهري في استخدام الطرق الجزيئية في مجال تربية النبات، في الوقت الذي كان التوصيف المورفولوجي هو الطريقة الوحيدة المستخدمة منذ اعتماده من قبل العالم النمساوي جورج مندل في منتصف القرن التاسع عشر وحتى منتصف القرن العشرين حيث طُبقت الطرائق البيوكيميائية التي كانت مقتصرة على استخدام تقانة الأيزوزيمات، ويعتمد مبدأ عملها على فصل بروتينات ذات وظيفة أنزيمية واحدة، لكنها تختلف بالشحنة الكهربائية التي تحملها على هلامة ضمن جهاز الرحلان الكهربائي. وكان التحول للتوصيف باستخدام المؤشرات الجزيئية مع ثمانينات القرن العشرين.

تقسم المؤشرات الجزيئية المستخدمة في دراسات التنوع الوراثي إلى أربعة مجموعات (Mohan et al., 1997; Gupta and Varshney, 1999; Gupta and Varshney, 2000).

١. الأيزوزيمات وبروتينات التخزين.

٢. المؤشرات القائمة على مبدأ تهجين DNA.

٣. المؤشرات القائمة على مبدأ تفاعل PCR.

٤. المؤشرات القائمة على تحليل وتجزئة DNA.

١. المؤشرات البيوكيميائية:

١,١. الإيزوزيمات: وهي جزئيات بروتينية ذات شحنات مختلفة يمكن فصلها بالرحلان الكهربائي. وبما أن الأنزيمات ترجع تفاعلات كيميائية محددة فإنه يمكن كشف موقع الأنزيم المحدد على الهلامة إذا وضعت الركيزة substrate والعوامل المساعدة من خلال تفاعل يظهر بشكل لوني كحزمة يتوضع فيها أنزيم معين من خلال الرحلان الكهربائي. تمثل الحزم الناتجة عن أنزيمات محددة نواتج بروتينية، ولها أساس وراثي، وبالتالي يمكن أن تقدم معلومات وراثية بشكل مؤشرات متساوية السيادة، ولكن يحد من استخداماتها قلة عدد مواقعها الوراثية، كما أنها تتعرض لتعديلات ما بعد الترجمة.

٢,١. بروتينات التخزين: تعتبر بروتينات الغليادين والغلوتينين أهم مجموعتين من بروتينات التخزين في القمح. يتكون الغليادين من جزيئات بروتينية صغيرة نسبياً تعطي العجينة اللزوجة، بينما يتكون الغلوتينين من جزيئات أكبر بكثير ترتبط مع بعضها عن طريق روابط ثنائية الكبريت ومسؤولة عن المطاطية (Payne et al., 1984) ويعتقد أنها تعطي عجينة القمح خصائصها المميزة التي تسمح باستخدامها في صناعة الخبز وذلك في أقماح الخبز السداسية. شكلت بروتينات التخزين محوراً لعدد كبير من الدراسات الوراثية الأساسية والتطبيقية. وساهمت بتحديد وتوصيف أصناف القمح في أصقاع الكرة الأرضية، حتى أن تجارة الحبوب في بريطانيا وخاصة القمح ومنذ ثمانينات القرن الماضي أضحت تستند إلى بيانات بروتينات التخزين في تحديد درجة نقاوة الأصناف، علاوة على استخدام حزم معينة كمؤشر على نوعية جيدة أو سيئة للعجين.

٢. المؤشرات القائمة على مبدأ تهجين DNA:

تميز هذا النوع من التقانات بقدرته على تغطية كافة المجموع الصبغي للنبات المدروس، ففي عام ١٩٨٠ اقترحت تقانة RFLP (Restriction Fragment Length

Polymorphism) لدراسة الاختلافات ضمن جزيئة DNA نفسها من قبل .,Botstein et al (1980). تتضمن هذه التقانة معاملة DNA المدروس بأنزيمات التحديد Restriction enzymes، وهي عبارة عن أنزيمات مستخرجة من بكتريا معينة وتتعرف على مقاطع نيوكليوتيدية محددة تقطع عندها DNA المدروس إلى عدد من القطع تسمى قطع التحديد. وتسمى المنطقة من DNA التي سيتعرف عليها الأنزيم ويقطعها بموقع القطع (Restriction site). تفصل بعد ذلك القطع المجزأة ضمن جهاز الرحلان الكهربائي كل حسب طولها الجزيئي. يلي ذلك نقلها إلى أغشية معينة (Membrane) عبر تقانة Southern blotting وتهجينها بمسابر موسومة بنظائر مشعة. إن التعدد الشكلي للحزم الناتجة (Polymorphism) المستحصل عليه بهذه التقانة ناتج عن وجود اختلافات بالتسلسل النيوكليوتيدي لموقع القطع، وقد تعود هذه الاختلافات لاستبدال زوج من النيوكليوتيدات Substitutions أو إدراجها Insertions أو استبعادها Deletions أو لحدوث طفرات معينة Mutations (Higuchi et al., 1998; Shin et al., 1990). إن أعداد وأطوال الحزم المتباينة الناتجة عن استخدام هذه التقانة يعود لاستخدام الأنزيمات المختلفة.

٢,١. ميزات المؤشرRFLP :

- يعتبر متساوي السيادة وبالتالي يمكن بواسطته الكشف عن اللواقح المتماثلة homozygosity أو المتخالفة heterozygosity.
- يعطي معلومات وفيرة ويمكن تحديد البصمة الوراثية باستخدام ١٠-٢٠ مؤشراً فقط للطرز المراد توصيفها (Soller and Beckmann, 1993) .
- ثابت وغير متبدل يعطي نتائج غير متغيرة بتغير المكان أو الزمان.

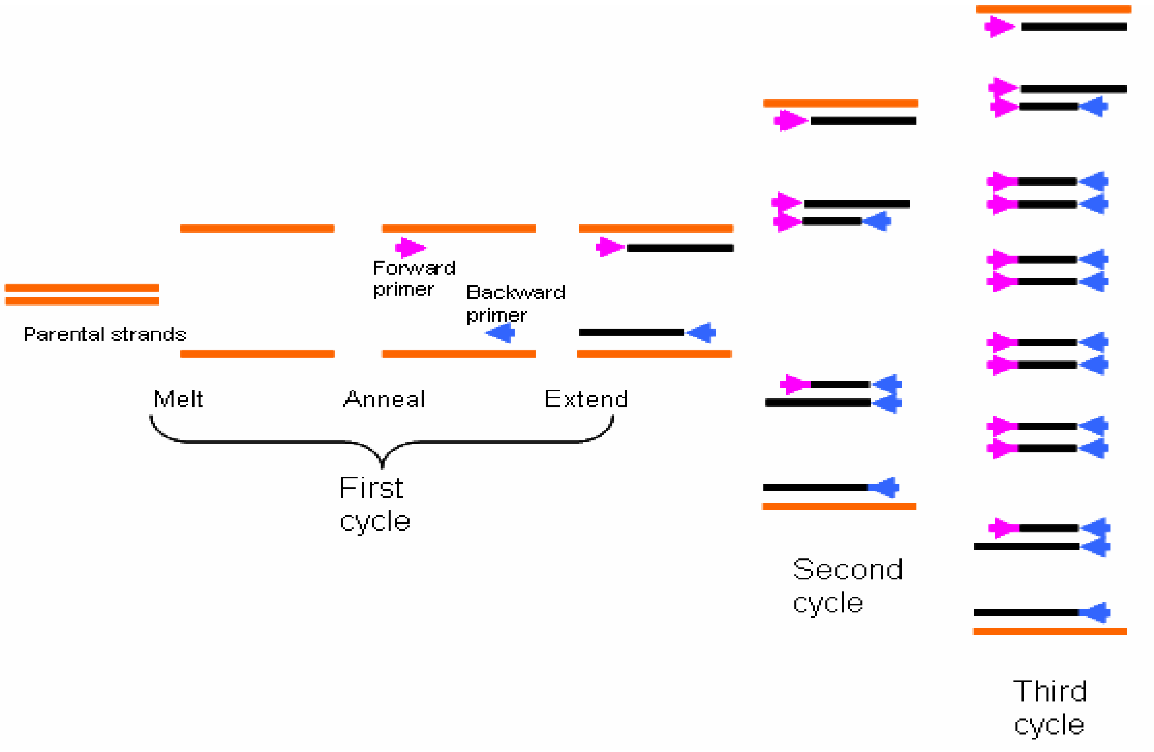
٢,٢. مساوئ المؤشرRFLP :

- يحتاج في إنجازه لوقت وجهد كبيرين.
- يحتاج لكمية من DNA كبيرة وذات نوعية ممتازة.
- ذو كلفة عالية ويتطلب استخدام المواد المشعة.
- يعطي عدداً قليلا من التباينات الوراثية ضمن الأصناف متعددة الصيغة الصبغية Polyploidy كالقمح.

وعلى الرغم من وجود هذه الصعوبات في القمح فقد استخدمت هذه التقنية بشكل واسع لرسم الخريطة الوراثية لبعض الصفات في الأرز (Devos et al., 1992) وفي تعريف أصناف القمح (Gupta et al., 1998).

٣. المؤشرات القائمة على مبدأ التفاعل التسلسلي للبوليميراز (PCR):

أحدث اكتشاف تفاعل PCR (Polymerase Chain Reaction) من قبل (Mullis et al., 1986) أكبر ثورة في مجالات التقانات الحديثة للبيولوجيا الجزيئية في ثمانينات القرن الماضي وكان سبباً في منحه جائزة نوبل عام ١٩٩٣. يتمتع هذا التفاعل بالقوة والفعالية الفائقة إضافة لحساسيته الشديدة. وهو ذو تطبيقات في مجالات عديدة كالبيولوجيا الجزيئية الوصفية (Molecular biology diagnostics) ووراثة المجتمعات. وفكرة هذا التفاعل بسيطة وتتلخص بالتركيب والتصنيع المتكرر وبشكل مستمر لقطعة محددة من DNA لينتج في النهاية كمية كبيرة من DNA وحيد السلسلة ابتداءً من كمية قليلة جداً من DNA المدروس ومشابه لها (Saiki et al., 1985). يعتمد هذا التفاعل على وجود بادئة وهي قطعة من DNA معروفة التسلسل النيوكليوتيدي تلتصق بالمناطق المحيطة بـــ DNA المدروس ومن خلال تكرار عمليات Denaturation (فصل سلاسل DNA) المزدوجة وتحويلها إلى سلاسل مفردة عن طريق تحطيم الروابط الهيدروجينية بتأثير الحرارة المرتفعة، ثم Annealing (التحام البادئة بالمناطق المحيطة بــDNA المدروس)، ثم Extension (تركيب سلسلة DNA جديدة) سيؤدي لتركيب DNA جديد وذلك ضمن تضاعف أسي(2^n amplification) (شكل 2).



الشكل(2): مراحل تفاعل PCR والتضاعف الأسي لقطعة DNA الأولية ضمن حلقات متسلسلة.

يتمتع تفاعل PCR بميزات عديدة إذا ما قورن بالمؤشرات القائمة على مبدأ التهجين وهي:

١. يحتاج لكمية قليلة من DNA.

٢. معظم التقانات المشتقة عنه لا تحتاج لاستخدام المواد المشعة.

٣. لا يحتاج لتجهيزات مخبريه كبيرة ومتقدمة.

٤. لا يحتاج لمعرفة مسبقة بـــ DNA وذلك في معظم التقنيات المشتقة عنه.

وتختلف هذه الميزات زيادة ونقصاناً تبعاً للتقانة المستخدمة المشتقة من هذا التفاعل والتي صنفت ضمن طرازين وفق نوعية البادئ المستخدم: تقنيات ذات بادئات PCR عشوائية، أو نصف عشوائية. لقد صُممت البادئات المستخدمة دون معرفة مسبقة بـــ DNA المدروس ومثال ذلك: (RAPD, AFLP, ISSR, DAF)

RAPD :Random Amplified Polymophic Band
AFLP : Amplified Fragement Length Polymorphic
ISSR : Inter Simple Sequence Repeat
DAF : DNA Amplification Fingerprinting

وتقنيات تهدف لدراسة جزء محدد من المجموع الصبغي، ويحتاج لتطوير البادئات الخاصة بها لمعرفة مسبقة بالتسلسل النيوكليوتيدي لـــ DNA المدروس مثال: (EST, CAPS, SSR, STS).

EST : Expressed Sequence Tags.
CAPS: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
SSR : Simple Sequence Repeat
STS : Sequence Tagged Site

ويعرض الجدول (٢) مقارنة مابين التقنيات الأكثر استخداماً من قبل الباحثين وذلك من خلال عدة عوامل، حيث يتبين تفوق مؤشري AFLP و SSR. وقد توصل إلى هذه النتيجة عدد كبير من الباحثين (Linn et al., 1996; Janssen et al., 1996; Schwengel et al., 1994). ونظراً لأن مؤشر SSR غني بالمعلومات الوراثية فقد تم التعبير عنه بعدة مصطلحات إحصائية مثل معامل التنوع الوراثي (Genetic diversity index) أو محتوى معلومات التباين (Polymorphic information content) أو التغايرية المتوقعة (expected heterozygosity). ونظراً لكونه موقع تخصصي ومتساوي السيادة، فذلك يجعل منه الخيار الأفضل لمجالات كثير من البحث، بما فيها المجال العملي لتربية النبات ودراسات التنوع الوراثي، والتي تعتبر القاعدة الأساس، والخطوة الأولى للولوج ضمن برامج التربية الحديثة.

جدول (٢): مقارنة عامة مابين المؤشرات الجزيئية الأكثر انتشاراً واستخداماتها حسب (Rafalski and Tingey., 1993; Kalendar et al., 1999; Ridout and Domini, 1999).

المؤشر	RFLP	RAPD	DAF	SSR	AFLP
مبدأ العمل	أنزيمات تحديد وتهجين مع مسابر خاصة	مضاعفة DNA ببادئات عشوائية	مضاعفة DNA ببادئات عشوائية	مضاعفة قطع بسيطة متكررة ببادئات خاصة	أنزيمات تحديد ولصق وصلات بيولوجية وبادئات انتقائية
نوع التباين الناتج عنه(polymorphism)	تغيرات في زوج واحد من القواعد النيوكليوتيدية (حذف،إضافة)			تغير في عدد الوحدات المتكررة	تغيرات في زوج واحد من القواعد النيوكليوتيدية (حذف،إضافة)
الوفرة ضمن المجموع الصبغي	عالية	عالية جداً	عالية جداً	متوسطة	عالية جداً
مستوى التباين الوراثي الناتج عنه	عالي	متوسط	عالي	عالي جداً	عالي
التوريث (السيادة)	متساوي السيادة	سائد	سائد	متساوي السيادة	سائد
عدد المواقع الوراثية المكتشفة	١-٥	١-١٠	٢٠-٣٠ أو أكثر	١-٣	١٠٠-١٥٠
كمية DNA المطلوبة	٢-١٥ µg	١٠-٥٠ ng	١٠-٥٠ ng	٥٠ ng	٠,٥-١ µg
يحتاج لدراسة السلسلة الوراثية	لا يحتاج			يحتاج	لا يحتاج
الكلفة الاقتصادية	متوسطة	منخفضة	متوسطة	مرتفعة مبدئياً	مرتفعة
الأتمتة	غير ممكنة			ممكنة	
استخدامها ضمن دراسات التنوع الوراثي	عادي	واسع		واسع جداً	

$ng = 10^{-9}g$, $\mu g = 10^{-6}g$

تطبيقات المؤشرات الجزيئية:

لقد أدى ابتكار المؤشرات الجزيئية مثل RFLP وRAPD وAFLP وSSR وتطبيق التقنيات المختلفة لتفاعل PCR إلى الدخول في عصر جديد من التحاليل الوراثية للمجاميع الصبغية للنباتات المختلفة مثل:

١. **إنشاء ورسم الخرائط الوراثية:**

لقد تحققت قفزة هائلة في مجال تربية ووراثة النبات. وتم رسم خريطتين وراثيتين للقمح الطري، تحتوي الأولى على ٢٧٩ موقعاً وراثياً (Röder et al., 1998) وحددت الثانية ٥٠ موقعاً وراثياً(Stephenson et al., 1998). أما بالنسبة للقمح القاسي فقد تم تحديد ١٤ موقعاً وراثياً من مواقع Microsatellite على الصبغيات 5A و 5B والتي تحمل المورثات المسؤولة عن محتوى البروتين والمقاومة لذبابة هسْ باستخدام مجتمعات ITMI (International Triticeae Mapping Initiative).

٢. **البصمة الوراثية وتحديد هوية الأصناف:**

إن عملية الفصل فيما بين الأصناف هي قضية مركزية في مجال تجارة البذور وذلك لحماية حقوق المربين. كما وأن تحديد هوية الأصناف، واختبار نقاوتها، هي أيضاً من القضايا المهمة في مجال الصناعة، فمثلاً تم تحديد هوية ١٠٥ أصناف من القمح السداسي المتقاربة وراثياً من الأرجنتين باستخدام مؤشر Microsatellite، (Manifesto et al., 2001)

٣. **دراسات التنوع الوراثي:**

إن معرفة التنوع الوراثي في نوع ما، ودراسة العلاقات الوراثية مابين أفراد هذا النوع هي من الأهمية بمكان لإدارة استخدام وحفظ الأصول الوراثية. كما وأنها ضرورية للاختيار الأمثل للآباء الداخلة ضمن برامج التربية. لذا كان استخدام المؤشرات الجزيئية على نطاق واسع لتجميع الطرز المختلفة من الشعير ضمن مجموعات تبعاً للتشابه الوراثي فيما بينها باستخدام مؤشرات مختلفة مثل RFLP (Melchinger et al., 1994; Graner et al., 1994; Casas et al., 1998) و RAPD (Dweikat et al., 1993; Tinker et al., 1993) و AFLP (Schut et al., 1997; Ellis et al., 1997) و SSR (Russel et al., 1997). وظهرت بشكل خاص أهمية مؤشر Microsatellite في تقييم العلاقات الوراثية بين أفراد تابعة لمحاصيل عدة منها

الذرة (Taramino and Tingey, 1996) والشعير(Russel et al., 1997) والقمح (Plaschke et al., 1995; Domini et al., 1998; Lelley et al., 2000; Stachel et al.. 2000; Prasad et al., 2000; Huang et al., 2002)، والأرز (Wu and Tanksley, 1993; Ahn et al., 2000) والذرة السورغمية (Brown et al., 1996) وعباد الشمس (Paniego et al., 2002) والإيجيلوبس *Aegilops tauschii* (Lelley et al., 2000) والبطاطا (Provan et al., 1996).

أهمية البحث:

- إن تقدير النقاوة الوراثية للأصناف المرباة والمعتمدة وتحديد مصدر التنوع الوراثي ضمنها وتحديد مصدر الآباء من الأمور الهامة جداً أكاديمياً وتطبيقياً ولاسيما في مجال تجارة الحبوب.
- يفيد تقييم التنوع الوراثي (من خلال مخططات التحليل العنقودي) في الاختيار الصحيح للآباء المدخلة ضمن برامج التحسين الوراثي الأقماح.
- إن ربط المعطيات الوراثية الناتجة عن تحليل البروتين و DNA ببعض المواصفات النوعية والكمية يعتبر مطلباً هاماً في ضمان حقوق الملكية لمربي النبات.
- إن إيجاد علاقات الارتباط مابين المواقع الوراثية والمواصفات المورفولوجية ذات الأهمية لبرامج التربية مفيد لاستخدام هذه المواقع الوراثية كمؤشرات على الصفة المرغوبة مما يؤدي لتسريع عمليات التربية واختصار الزمن اللازم لظهور الصفة مورفولوجياً.
- نظراً لاختلاف آراء الباحثين حول فعالية وكفاءة استخدام تقانة تحليل البروتينات مقارنة مع كفاءة تقانة تحليل DNA من حيث الكشف عن أكبر عدد من المواقع الوراثية، لذلك كان موضوع المقارنة بين هاتين التقانتين لتحديد كفاءة كل منهما في الكشف عن المواقع الوراثية من المبررات المهمة لهذا البحث.

أهداف البحث:

- تحديد هوية أهم طرز القمح الوراثية الموجودة في سورية وذات الأهمية لبرامج التربية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية باستخدام:
  1. التوصيف المورفولوجي
  2. التوصيف البيوكيميائي باستخدام طرائق: A-PAGE و SDS-PAGE
  3. التوصيف الجزيئي باستخدام المؤشرات الجزيئية.
- إيجاد علاقات بين بعض الحزم الناتجة عن تحليل البروتين وبعض الصفات الاقتصادية الأخرى لاستخدامها في برامج التربية.
- مقارنة فعالية وكفاءة الطرائق الجزيئية الحديثة (مؤشرات DNA) بالمقارنة مع فعالية وكفاءة طريقتي A-PAGE, SDS-PAGE.
- دراسة التوافق ودرجة التأثير المتبادل مابين المواقع الوراثية المدروسة وتأثيرها على الصفات المورفولوجية المدروسة.
- الكشف عن درجة النقاوة الوراثية بين أهم الأصناف الحديثة والقديمة لكل من القمح السداسي والرباعي.

إن هذا البحث هو ثمرة للتعاون العلمي بين جامعة تشرين- كلية الزراعة، وهيئة الطاقة الذرية السورية، والهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، ومعهد لايبنز لوراثة النبات وأبحاث المحاصيل في ألمانيا (IPK).

الفصل الأول

التوصيف البيوكيميائي

المقدمـــة

جمع الناس القمح البري قبل بداية الزراعة بزمن طويل. ويعتقد العلماء أنه منذ حوالي ١٠ آلاف عام تمت في الشرق الأوسط أولى خطوات زراعة واستئناس النباتات. ويعد القمح *Triticum spp.* أحد أوائل المحاصيل التي تم استئناسها وزراعتها حيث كان المزارعون ينتخبون الحبوب من أفضل النباتات لاستخدامها كبذار لزراعة الموسم التالي. وبهذه الطريقة من الانتخاب، إضافة إلى الانتخاب الطبيعي، نُقلت صفات معينة ومرغوبة باستمرار. وما العشائر النباتية والأصناف المحلية الموجودة حالياً إلا نواتج لهذا الانتخاب كالصنف حوراني، الذي مازال يزرع في الكثير من المناطق، إلى جانب أصناف محسنة (معلا، حربا، ٢٠٠٥). ولحسن الحظ لاتزال هذه العشائر تزرع بمساحات قليلة مثل، ناب الجمل، بلدية حمراء، شيحاني، حماري، سويد..

إن الإستغناء عن زراعة كثير من الأصناف القديمة، والاستعاضة عنها بزراعة أصناف جديدة ومحسنة، ساهم بفقد أصناف وطرز وراثية عديدة نتجت عن عمليات تأقلم وتطور وتفاعل مع البيئة المحيطة على مر العصور. ومن هنا تبرز أهمية حفظ المصادر الوراثية بما يضمن الاستقرار في الإنتاج، ويلبي رغبات المستهلك، ويتيح لمربي النبات انتخاب الصفات المرغوبة (Duvick, 1984). تعتبر عملية جمع وتقييم وحفظ الأصول الوراثية من أولى الخطوات المتخذة في الحفاظ على التنوع الوراثي من الفقد، وإحدى العمليات المهمة لدعم وتطوير برامج التربية المستقبلية (Fahima *et al*., 1999).

كما وتعتبر عمليات تقييم الأصول الوراثية المختلفة باستخدام المواصفات المورفولوجية من أولى المؤشرات المستخدمة ضمن هذا المجال، وذلك لعدد كبير من الأنواع والأصناف النباتية (Smith,1984) ومنها القمح (Ellis,1984). إلا أنه يؤخذ عليها تأثرها بالظروف البيئية (Hatzopoulos *et al*., 2002) .

تعد بروتينات التخزين في القمح من المؤشرات البيوكيميائية الهامة في الكشف عن التباينات الوراثية، وقد استخدمت لتقييم الأصول الوراثية المختلفة، وتحديد هوية أصناف

القمح الرباعية والسداسية (Payne *et al*.,1984; Redaelli *et al*., 1997; Mir Ali, 2002 a,b; Shuaib *et al*., 2007;). وانتشرت على نطاق واسع كونها غير مكلفة وبسيطة وذات قدرة على الكشف عن التباينات الوراثية بين الأصناف الوراثية المختلفة (Metakovsky and Branlard,1998). واستخدمت بشكل فعال في تحديد درجة الخلط ومعرفة أسبابه سواء أكان ميكانيكياً أم وراثياً (Mir Ali, 2000).

لقد دُرست بروتينات الحبوب منذ زمن طويل يعود لـــ ٢٥٠ عاماً، حيث تم عزل البروتين أول مرة من حبوب القمح من قبل (Beccari (1754، تلاه (Osborne (1907 والذي يعد بحق مؤسس كيمياء بروتينات النبات، كما أن تقسيمه للبروتينات منذ بدايات القرن الماضي لا يزال مقبولاً إلى حد كبير، فقد قسمها بحسب درجة انحلالها في المحاليل المختلفة إلى أربعة مجموعات رئيسة هي: الألبومينات(ذوابة بالماء) والغلوبيولينات(ذوابة بمحاليل الأملاح) والبرولامين والجلوتيلين. وتشكل الزمرتان الأخيرتان أهم بروتينات التخزين في القمح وتسميان الغليادين(ذواب بالكحول) والغلوتينين(ذواب بالقلوي) على التوالي وتكونان ٩٠% من بروتينات البذور.

وتعرف بروتينات التخزين، بأنها أي بروتين يتراكم في الحبة، ويتحلل مائياً ليحرر مكوناته من الأحماض الأمينية، التي تستخدم كمصدر للنيتروجين من قبل البادرات أثناء الإنبات، وفي المراحل الأولى من النمو (Spencer, 1984). وحظيت كلتا الزمرتين بجانب كبير من الدراسات البيوكيميائية والوراثية. إن الغليادين مسؤول عن صفة اللزوجة في عجينة الخبز، بينما الغلوتينين مسؤول عن صفة المطاطية (Payne *et al*., 1984; Mir Ali, 2000). ويعتبر الغليادين عبارة عن خليط مزدوج من الببتيدات وحيدة السلسلة وذات وزن جزيئي مرتفع يتراوح بين ٣٠٠٠٠-٧٥٠٠٠ دالتون، بينما يبلغ الوزن الجزيئي للغلوتينين ٤٠ مليون دالتون. وكان (Bietz and Wall.,(1972 أول من سجل انفصال الغلوتينين إلى نوعين من تحت الوحدات، الأول: هو تحت الوحدات ذات الوزن الجزيئي المرتفع High molecular wheight sub units (HMW-GS)، والثاني:تحت الوحدات ذات الوزن الجزيئي المنخفض Low molecular wheight sub units (LMW-GS) وذلك بعد معاملته بعامل مختزل (reducing agent) مثل مركبتوايتانول. وتتشكل بروتينات التخزين في القمح بشكل عام من ٥٠% غليادين و ١٠% HMW-GS و ٤٠% LMW-GS.

أما من الناحية الوراثية، فإن المورثات المسؤولة عن كلتاهما موثقة بشكل جيد، حيث يوجد ستة مواقع غليادين رئيسة تقع على الذراع القصير لكل من المجموعة الصبغية الأولى 1A و1B و1D (موقع *Gli-1*) والسادسة 6A و 6B و6D (موقع *Gli-2*)، إضافة إلى عدد من المواقع الثانوية التي ذكرها كل من Metakovsky *et al*., (1984) و Pogna *et al*.,(1993).

من ناحية أخرى تقع الوحدات ذات الوزن الجزيئي المرتفع على الذراع الطويل من المجموعة الصبغية الأولى 1A و 1B و1D (موقع *Glu-1*)، بينما تقع الوحدات ذات الوزن الجزيئي المنخفض على الذراع القصير من ذات المجموعة (موقع *Glu-3*) الذي يعتقد أنه مرتبط (linked) مع موقع *Gli-1* (Pogna *et al*., 1990).

من الشائع أحيانا وجود أصناف تعطي عند تحليلها الجزيئي أكثر من نموذج رحلان (Pattern)، وهذا يحدث عادة عندما يكون هذا الصنف غير متماثل اللواقح، أي أن بعض الحبوب ضمن المجموعة تحمل أليلات بديلة (alternative) في بعض مواقع المورثات (loci). ويمكن أن تلاحظ هذه الظاهرة حتى ضمن الأصناف المحسنة والتي من المفترض أن تكون على قدر كبير من التشابه الوراثي كما أشار Porceddu *et al*.,(1998)، حيث أعطى الصنف الإيطالي Lira طرازين وراثيين: الأول يحمل الحزمة ٤٢ والتي هي مؤشر للعجينة السيئة، والثاني: يحمل الحزمة ٤٥ والتي هي مؤشر للعجينة ذات المواصفات الجيدة.

استخدمت تقنية Acidic Poly Acrylamide Gel Electrophoresis (A-PAGE) المطورة من قبل Bushuk & Zillman (1978) والتي تعتمد على فصل الغليادين ضمن هلامة من الأكريلاميد تحت وسط حامضي (PH=3.1) من قبل Mir Ali, (2002, a,b) و Ram *et al*.,(2005) بهدف تحديد هوية كثير من أصناف القمح. وساهم استخدام تقنية (SDS-PAGE) Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis المطورة من قبل Payne *et al*., (1981) بالحصول على معلومات إضافية ذات موثوقية عالية فيما يتعلق بتعريف أصناف القمح المختلفة (MirAli *et al*., 1999, a,b).

أهداف البحث:

١. تحديد هوية ٣٨ صنفاً من أصناف القمح القاسي و١٢ صنفاً من أصناف القمح الطري باستخدام تقنيتي الرحلان الكهربائي (A-PAGE) و(SDS-PAGE).

٢. دراسة التنوع الوراثي والعلاقات الوراثية مابين الأصناف ضمن هذه المجموعة باستخدام تقنيتي الرحلان الكهربائي (A-PAGE) المتخصصة في الكشف عن الغليادين و(SDS-PAGE) المتخصصة في الكشف عن الغلوتينين للحصول على توصيف بيوكيميائي دقيق.

٣. الكشف عن نقاوة بعض أصناف القمح الطري والقاسي المحسنة والبلدية في سورية وتحديد مصدر التباينات ضمن الصنف فيما إذا كانت ذات منشأ وراثي، أو هي نتيجة لخلط ميكانيكي.

٤. إيجاد علاقات بين بعض الحزم الناتجة عن تحليل البروتين وبعض الصفات الاقتصادية الأخرى لاستخدامها في برامج التربية.

الدراسة المرجعية

١- بروتينات التخزين:

تعتبر صفة نوعية القمح (Quality) من الصفات الأكثر أهمية التي تهم المستهلك. وهي عبارة عن صفة مشتقة من صفتين مترابطتين، وهما قساوة الحبة ومحتواها البروتيني. وتتحدد هذه الصفة بالتركيب الجزيئي لبروتينات التخزين في القمح، والتي تحدد بدورها العلاقات بين البروتينات أثناء عملية تصنيع الخبز (Bushuk, 1998; Shewry et al.,1999) وذلك ضمن سياق تطوير الصفات المتعلقة بنوعية البروتين (مطاطية مرتفعة قوة عجين مناسبة..). وبهدف التحسين الوراثي من خلال برامج التربية، فقد تركزت معظم الأبحاث على أهمية الغلوتينين وخاصة وحدات الغلوتينين مرتفعة الوزن الجزيئي (HMW) ولاسيما تلك التي تتبع لتحت المجموعة الصبغية D (Payne et al., 1981; Gupta and MacRitichie 1994; Popineau et al., 1994) وذلك لعدة أسباب أهمها:

- سهولة إجراء التحاليل الخاصة بها.
- ووضوح تحت الحزم الناتجة عنها بعد تطبيق تقنية الرحلان الكهربائي SDS-PAGE.
- يتم فصلها بشكل واضح وقوي عن بقية الروابط العديدة الببتيدات.

وبُرر الاهتمام والتركيز على HMW-GS كونها من المكونات الهامة لمجموعة الجلوتين (Gluten complex). وعلى العكس فإن تواجد تحت وحدات الغلوتينين منخفضة الوزن الجزيئي LMWGS يفوق تواجد HMWGS بثلاث مرات، إلا أن نصيبها من اهتمام وتحليل الباحثين كان أقل(Shewry et al., 1992; Shewry & Tatham, 1997) وذلك لأنها:

- ذات وزن جزيئي منخفض مما زاد من صعوبة دراستها وتحليلها.
- ارتباطها وتمازجها مع عديدة الببتيدات الأخرى في هلامة SDS خلال الرحلان الكهربائي.

تصنيف بروتينات التخزين

سُجلت في بدايات القرن الماضي محاولة لتصنيف بروتينات الحبوب من قبل Osborne, (1907) الذي طور نظاماً للتصنيف بناءً على طرق استخلاص البروتينات ودرجات ذوبانها المختلفة . ويظهر جدول (٣) الصفات العامة لبروتينات التخزين.

جدول(3): الصفات العامة لبروتينات التخزين في القمح (مير علي وآخرون، ١٩٩٥).

	الغليادين	**الغلوتينين**
الدور في العجين	اللزوجة	المطاطية
التركيب	خليط معقد من بولي ببتيدات مفردة	تجمعات متغايرة كبيرة
طريقة الربط	مرتبطة ببعضها عن طريق قوى	مرتبطة ببعضها عن طريق روابط
الارتباطية بالماء	شرهة للماء	ثنائية الكبريت كارهة للماء
الوزن الجزيئي	٣٥-٧٠ كيلو دالتون	٤٠ مليون دالتون

أما Chen and Bushuk (1970) فقد أضاف قسماً خامسا للأقسام الأربعة الأولى المطورة من قبل Osborne, (1907) حيث قسم الغلوتينين لقسمين إثنين، الأول: ذواب ضمن حمض الخل الممدد بتركيز (0.05 M)، والثاني: غير ذواب ضمن هذا المُحل.

وسجل Beckwith et al., (1966) وجود جزء من البروتينات الذوابة بالإيثانول سماها غليادين مرتفعة الوزن الجزيئي. ووجد Nielsen et al., (1968) أن هذه البروتينات تسلك سلوك الجلوتينات إذ تخفض بشكل حاد من لزوجة العجينة عند نقصان الروابط ثنائية الكبريت، ولذلك سميت جلوتينات منخفضة الوزن الجزيئي، ليأتي لاحقاً من صنفها كبروتينات محتوية على تحت وحدات جلوتينات ذوابة بالإيثانول (Bietz and Wall 1972; Kanazawa and Yonezawa, 1973). وتبين فيما بعد (باستخدام الرحلان الكهربائي ثنائي البعد 2D electrophoresis) أن مكونات هذه البروتينات مطابقة لـــ LMWGS ومختلفة عن الغليادينات عديدة الببتيدات. وتم ذلك (Jackson et al., 1983)

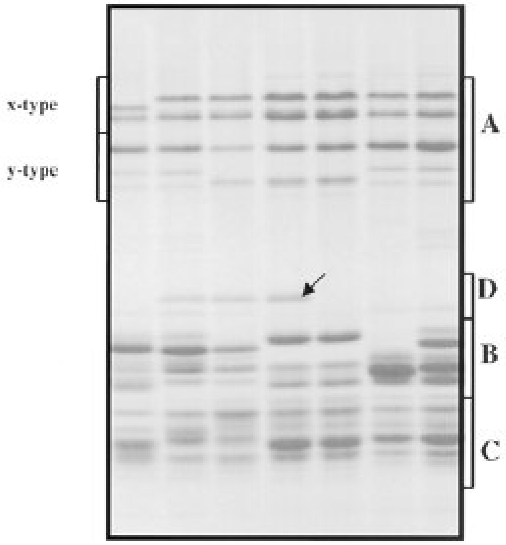
اعتبر Ewart (١٩٩٠) أن الاختلاف الأساسي مابين الغلوتينين الذي هو Polymeric والغليادين الذي يعتبر Monomeric يكمن فـــي القدرة بين الجزيئية لروابط ثنائية الكبريت (Intermolecular disulfide bonding capacity) (MacRitchie, 1992).

إن الاختلاف الرئيسي مابين مجموعتي بروتينات التخزين يكمن في التحليل الوظيفي لكل منهما، ففي حين أن الغليادين هو بروتين وحيد سلسلة البولي ببتيدات، فإن الغلوتينين هو بروتين ذو بنية مركبة من عدة سلاسل من الببتيدات المرتبطة مع بعضها بروابط ثنائية الكبريت(S-S)، مما يميزها بوزن جزيئي مرتفع يعطيها أثراً وظيفياً مختلفاً عن الأثر الوظيفي المتشكل عن وجود الغليادين. وبالتالي يعتمد التصنيف والتفريق بين هذين النوعين من بروتينات التخزين على البنية الكيميائية لهما. وهذا التصنيف يعطي فكرة عن المورثات المسؤولة عن تشكيل وتركيب البولي ببتيدات (Payne and Lawrence, 1983).

تجمعات الغلوتينين:

تجاوز الوزن الجزيئي لبوليميرات الغلوتينين ٢٠ مليون دالتون بناء على الدراسات التي قام بها عدد من الباحثين(Huebner and Wall, 1976; Bietz and Simpson, 1992). وفي دراسات لاحقة قام بها Wrigley et al., (1996) تبيّن أن جزيئات الغلوتينين هي من أضخم جزيئات البروتين المكتشفة حتى تاريخه. لقد صنفت هذه البوليميرات الببتيدية ضمن أربع مجموعات (شكل ٣) تبعاً لدرجة رحلانها وحركيتها من خلال تطبيق تقنية SDS-PAGE وذلك بعد تحطيم الروابط (S-S):

- المجموعة **A**: وهي ذات أوزان جزيئية تتراوح مـــن ٨٠٠٠٠-١٢٠٠٠٠ دالتون وتدعى HMWGS حسب Payne et al., (1979) وتظهر على شكل ثنائيات(x و y).
- المجموعة **B**: وهي ذات أوزان جزيئية تتراوح من42000- 51000 دالتون.
- المجموعة **C**: وهي ذات أوزان جزيئية تتراوح من ٣٠٠٠٠- ٤٠٠٠٠ دالتون وتعتبر من مجموعة الجلوتينات منخفضة الوزن الجزيئي LMWGS والتي أُثبت وجود علاقة بينها وبين مجموعات الغليادين β وγ من قبل (Payne et al., 1979; 1985;Thompson et al.,1994).
- المجموعة **D**: والتي تنتمي إلى LMWGS ذات الطبيعة الحامضية والمتعلقة بمجموعة الغليادين ω (Jackson *et al.,* 1983; Masci *et al.,*1993).



شكل (٣): تصنيف البوليميرات الببتيدية.

نظام تسمية تحت وحدات الغلوتينين مرتفعة الوزن الجزيئي

كان Payne and Lawrence (1983) أول من طور نظام التسمية الرقمي لتحت وحدات الغلوتينين مرتفعة الوزن الجزيئي، اعتماداً على إعطاء أرقام تصاعدية لتحت الوحدات بناءً على حركية وهجرة تحت الحزم ضمن هلامة SDS-PAGE. وتأخذ الحزم التي تهاجر مسافة أطول وذات حركة عالية أرقاماً مرتفعة، بينما الحزم التي تهاجر مسافة أقل وذات حركية منخفضة تأخذ رقماً أقل. إلا أنه تم تسجيل تحت وحدات جديدة وذات توضعات مختلفة متداخلة مع الحزم القديمة مما جعل من الصعوبة منطقياً إتباع النظام نفسه في تسمية تحت الوحدات الجديدة، كتحت الوحدة ٢١ ذات الحركية المنخفضة، ولكنها أخذت رقما مرتفعاً ضمن نظام التسمية.

الوراثة والتباينات الوراثية لــ HMWGS

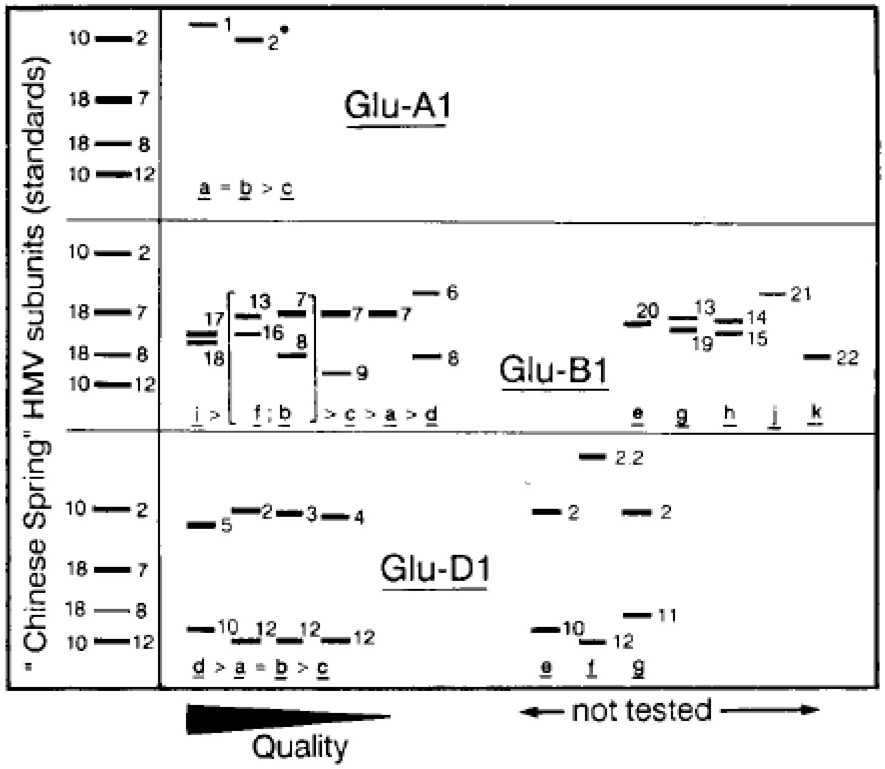
إن HMWGS مشفرة في المواقع الوراثية *Glu-1* على الأذرع الطويلة من المجموعة الصبغية الأولى (1A,1B,1D) (Bietz *et al.,*1975; Payne *et al.,* 1980, 1984, 1987). وتعرف هذه المواقع بـــ *Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1* (شكل٥). يتضمن كل موقع وراثي مورثين اثنين مرتبطين سوية، ويعبر عنهما بإنتاج طرازين من HMWGS (x و y) كما في الشكل (4) (Payne *et al.,*1981; Payne et al., 1987; Shewry *et al.,*1992). يتميز الطراز x بهجرة أقل وحركية أبطأ ضمن نظام SDS-PAGE مقارنة بالطراز y الذي هو أسرع وبالتالي فهو يقطع مسافة رحلان أكبر. أظهرت دراسات كثيرة وجود تباينات كبيرة بعدد HMWGS، وبحركيتها ضمن الرحلان وذلك في أصناف القمح الطري (Lawrence and Shephered 1981; Payne *et al.,*1980) والقمح القاسي (Branland *et al.,*1989; Waines and Payne 1987). وبالتالي فإن مواقع *Glu-1* قد أعطت ألليلات عديدة. وأجمل Payne and Lawrence, (1983) أعداد الألليلات الناتجة من هذه المواقع بـــ ٣ على الموقع *Glu-1A* و ١١ على الموقع *Glu-1B* و ٦ على الموقع *Glu-D1*. وهناك أعداد إضافية من الألليلات تم تعريفها فيما بعد من قبل(McIntosh *et al.,* (1994. وقد سجلت هذه التباينات على كثير من الطرز البرية مثل *Aegilops* (Fernandez-Calvin and Orellana 1990)، و *T. tauschii* (Lagudah and Halloran 1988; Williams *et al.,*1993; Gianibelli *et al.,* 2000) وأنـــواع einkom (Waines and Payne 1987; Ciaffi *et al.,* 1993, 1998).

علاقة HMWGS مع نوعية الخبز:

تبين أن بعض HMWGS ذات علاقة بنوعية العجين للخبز، فقد وجد Payne et al., (1981) أن بعض تحت الوحدات الألليلية ذات تأثير على نوعية الغلوتينين مثل تحت وحدات الغلوتينين ١٠+٥ التابعة للموقع *Glu-D1* المرتبطة بصفة النوعية الجيدة للعجين. بينما تحت الوحدات ١٢+٢ هي مؤشر لنوعية ضعيفة من العجين. وتأكدت هذه النتائج من قبل Branlad and Dardevet (1985) حيث أشار إلى الأثر الايجابي لتحت الوحدات ١٠+٥ على العجينة بينما كانت تحت الوحدات ١٢+٢ ذات مؤشر سيء. كما أن تحت الوحدات ١٨+١٧ و٨+ ٧ والتي يتحكم بها الموقع *Glu-B1* ذات أثر ايجابي على قوة

العجينة، وعلى العكس لتحت الوحدات 20.وترجع هذه الاختلافات في العجينة لاختلاف الوزن الجزيئي لبوليميرات الغلوتينين (Gupta and MacRitichie, 1994).

بناء على ماسبق فقد تم تطوير نظام عددي لحصر HMWGS من قبل Payne and Lawrence (1983) (شكل ٤) والذي يظهر تحت وحدات الغلوتينين متدرجة كل برقمها بناءً على تقييم نوعية الطحين، ومساهمة المواقع الوراثية الثلاثة لــ HMWGS.



شكل (٤): الاختلافات الألليلية لــ HMWGS ضمن المواقع الوراثية الثلاثة للمورثات وعلاقتها مع نوعية العجين بحسب Payne and Lawrence (1983) باستخدام تقانة SDS-PAGE، وعلى اليسار نواتج ترحيل الصنف الطري Chinese Spring لمقارنة الحركية النسبية لها.

تحت وحدات الغلوتينين منخفضة الوزن الجزيئي:

توجد LMWGS في المناطق **B, C, D** (الشكل4 ،) وتشكل حوالي ثلث محتوى حبة القمح من بروتينات التخزين، و٦٠% من الغلوتينين الكلي (Bietz and Wall, 1973). وعلى الرغم من نسبة تواجدها المرتفعة، إلا أن نصيبها من اهتمام الباحثين كان قليلاً مقارنة بـــ HMWGS وذلك لصعوبة تحديدها وقلة وضوحها من خلال استخدام تقنية SDS-PAGE. وتكمن المشكلة في تداخل LMWGS مع بعض الغليادينات.

الوراثة والتباينات الوراثية:

إن LMWGS المعبر عنها من قبل المورثات الموجودة على المواقع الوراثية *Glu-A3,Glu-B3, Glu-D3* متوضعة على الذراع القصير للصبغيات 1AS, 1BS, 1DS على الترتيب. واستطاع كل من Gupta and Shephered (1990a) إظهار ٦ حزم مختلفة من LMWGS (ألليل) على الموقع *Glu-A3* و٩ على الموقع *Glu-B3* و5 على الموقع *Glu-D3*. وقد لوحظت هذه التباينات الوراثية في بعض أنواع القمح مثل *T. monococcum* و *T. urartu* (A genome) (Rodriguez-Quijano et al., 1997; Lee et al., 1999) و *T. dicoccoides* (AB genome) (Ciaffi et al., 1993) و *T.tauschii* (D genome) (Gianibelli, 1998). وقد فُسر الانخفاض النسبي لعدد LMWGS بأن المورثات المسؤولة عنها مرتبطة (Closely linked)، وتشكل مجموعات يكون تأثيرها الوراثي مجتمعاً كما هو الحال للمورثات المسؤولة عن توريث مجموعات الغليادين (Gupta and Shephered 1990a,b; Lagudah et al., 1991). كما لوحظ وجود ارتباط قوي مابين المواقع الوراثية *Glu-3* المسؤولة عن توريث LMWGS وبين المواقع *Gli-1* المسؤولة عن توريث الغليادينات (Singh and Shephered 1984; Payne et al., 1984, Pogna et al., 1990).

علاقة LMWGS مع نوعية الخبز:

هناك عدد من الدراسات التي أثبتت وجود علاقة ارتباط بين الاختلافات الأأليلية ضمن المواقع المسؤولة عن LMWGS والتي بدورها تعكس اختلافات في نوعية عجينة القمح الطري (Gupta et al., 1989) والقمح القاسي (Pogna et al., 1990). إن LMWGS تشكل تجمعات كبيرة قادرة على أن تؤثر على قوة العجينة. لقد كان Payne et al., (1984) أول من حدد تأثير LMWGS على صفات النوعية في القمح القاسي. وفي دراسة قام

بها Gupta and Mac Ritchie (1994) اقترح دراسة تأثير LMWGS على صفات النوعية بنفس الوقت وبتداخل مع دراسة تأثير HMWGS للحصول على نتائج أكثر قوة وتأكدية ضمن هذا المجال.

الغليادين: هو عبارة عن مزيج من البوليببتيدات وحيدة السلسة الذوابة في الكحول الممدد بنسبة ٧٠%. وقسمت إلى أربعة مجموعات بالاعتماد على درجة رحلانها وحركيتها ضمن نظام الرحلان الكهربائي A-PAGE وهي:

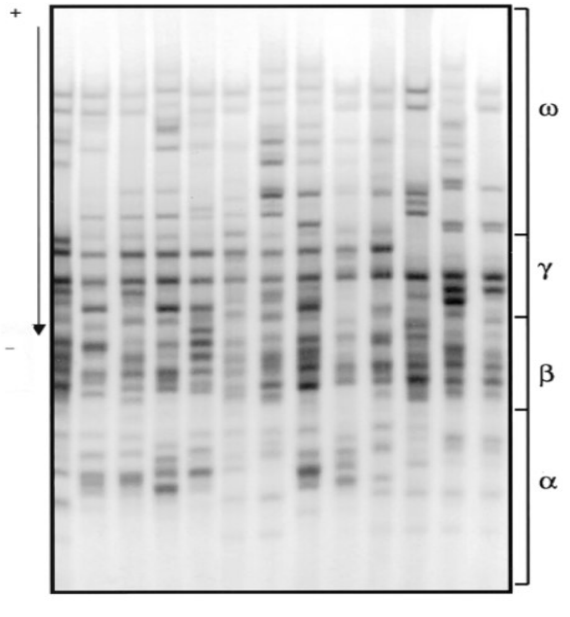
١– ω أوميغا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM أعلى من ٣٩.
٢– γ غاما غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين ٤٠–٥٦.
٣– β بيتا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين ٥٧–٦٨,٤.
٤– α ألفا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين ٦٩–٨٠.

وقد استطاع الباحثون باستخدام نظام الرحلان الكهربائي فصل غليادين حبة واحدة إلى ٢٠–٢٥ حزمة (Bushuk and Zillman 1978; Autran et al., 1979; Wrigley et al., 1982; Metakovsky et al., 1984).

ونظراً لوفرة المعلومات والتباينات الناتجة عن تطبيق هذه التقنية، فإن هذا النوع من بروتينات التخزين قد استخدم بشكل واسع في أبحاث تحديد الهوية الوراثية لأصناف القمح.

نظام تسمية حزم الغليادين:

بناءً على الحركية النسبية لحزم الغليادين الناتجة عن نظام الرحلان الكهربائي A-PAGE استخدمت أربعة حروف لتحديد مناطق الرحلان المختلفة وهي **ω**، **γ**، **β**، **α** (الشكل ٥).



الشكل(٥): نواتج فصل عينات الغليادين بنظام الرحلان الكهربائيA-PAGE. ويظهر السهم اتجاه الرحلان. الغليادين مقسم إلى أربعة مناطق ω، γ، β، α بحسب مسافة الرحلان.

الوراثة والتباينات الوراثية

إن المورثات المسؤولة عن توريث الغليادينات متوضعة على الذراع القصير لمجموعة الصبغيات ١ و٦. وهي عبارة عن مورثات مرتبطة بقوة ومتوضعة على المواقع الوراثية المتشابهة للمجموعتين الصبغيتين، الأولى: *Gli-A1, Gli-B1-, Gli-D1* والسادسة 6D, 6B, 6A (موقع *Gli-2*)، إضافة لعدد من المواقع الثانوية (Metakovsky and Branland,1998; Pogna *et al.*,1993).

علاقة الغليادين مع نوعية الخبز:

يعتبر الغليادين مسؤولاً عن لزوجة وتمدد العجينة. وعلى الرغم من أن بعض المؤلفين كانوا يربطون بين وجود بعض الأليلات وبين نوعية العجين، إلا أنه في الوقت الحالي يُعتقد بأن الغليادين ربما لا يملك تأثيراً مباشراً على قوة العجينة، وقد يعود ذلك لوجود LMWGS المرتبط وراثياً بقوة مع الغليادينات. من هذه الأليلات ذات الدلالة على نوعية البروتين الجيدة في الأقماح القاسية هي الحزمة غاما غليادين ذات الحركية النسبية ٤٥، بينما كانت الحزمة غاما غليادين ذات الحركية النسبية ٤٢ ذات دلالة على النوعية السيئة. أما ضمن الأقماح الطرية فإن وجود هاتين الحزمتين نادر، وفي حال وجدتا فإن ذلك لايعتبر مؤشراً على نوعية العجينة. ويعتبر المحتوى المنخفض للغليادين من اللايسين من أكبر العوامل السلبية المؤثرة على النوعية الغذائية لبروتينات القمح.

مواد وطرائق البحث

المادة النباتية:

تم الحصول على الأصناف من قسم بحوث الحبوب في إدارة بحوث المحاصيل – الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية. وهي عبارة عن سلالات حوراني محلية وأصناف محلية وأصناف معتمدة، إضافة لسلالات مبشرة بحسب الجدول (٤).

الجدول (٤): أصناف وسلالات القمح القاسي والطري.

الأصناف	المحلية	المحسنة
الرباعية (قاسي) *T. durum*	(١) حوراني عادي (٢) حوراني نووي (٣) حوراني أيوبية (٤).حورانيA (٥) حورانيB (٦) حورانيC (٧) حوراني ٢٧ (٨) حوراني قصير (٩)حماري عادي (١٠) حماري أحمر (11) سكلاوي، (١٢)شيحاني (١٣) ناب الجمل (١٤) رزي (١٥) مصريةA(١٦) بلدية حمرا (١٧) سوادي (١٨) بياضي(١٩) قوقو (٢٠) فرعونيA.	(٢١) دوما ٢٦٨٢٣ (٢٢) بحوث١١، (٢٣) جدارا٢١، (٢٤) بحوث٧، (٢٥) دوما ٢٠٦٠٢، (٢٦) بحوث٩ (٢٧)أوتوروب، (٢٨) أم بيت١، (٢٩)عين زين، (٣٠) دوما١، (٣١) **H-5948**، (٣٢) شام٧، (٣٣)أزغار١، (٣٤) شام ١، (٣٥) شام٣ ١، (٣٦) شام٥ (٣٧) بحوث ٥
السداسية	(١)سلموني، (٢) بريجي، (٣) سويد، (٤)	(٨) بحوث ٦، (٩) دوما ٢

(طري) ***T. aestivum***	**بلدية حمرا،(٥) قندهاري أحمر،(٦) فلورنس أورور(٧) قندهاري أبيض**	**(١٠) بحوث ٤، (١١) شام ٤ (١٢) شام ٨.**

أجري هذا البحث على مرحلتين:

الأولى: دُرس من خلالها التباين الوراثي، والعلاقات الوراثية بين الأصناف بترحيل عينة واحدة من كل صنف.

الثانية: دُرس التباين الوراثي ضمن الصنف بهدف الكشف عن نقاوة بعض الأصناف حيث اختيرت ثلاثة أصناف من القمح الطري (الصنف المحسن بحوث٦ والصنفان المحليان البلديان قندهاري أحمر وسويد)، وثلاثة أصناف من القمح القاسي (الصنف المحسن شام٥ والصنفان المحليان البلديان حوراني ٢٧ وناب الجمل)، وحللت ٤٨ حبة، كل على حدة من كل طراز.

استخلاص الغلوتينين بطريقة SDS-PAGE:

١. تحضير عينات الغلوتينين

استخلص الغلوتينين بحسب طريقة (١٩٧٠) Laemmli المعدلة مـــن قبل Payne *et al.*, (1981)

- وُزنَ 40 ملغ من الطحين في أنابيب أبندورف.
- حُضر محلول منظم للاستخلاص خاص بهذه التقنية (محلول 1)[5]
- أُضيف ٠,٦ مل من المحلول المنظم الاستخلاصي التالي لكل عينة:

  (١,٨ مل مركبتوأيتانول + 10.2 محلول(١) + ٢٤ مل ماء مقطر)
- رُجت العينات ٩٠ دقيقة على رجاجة أنابيب فردية (Vortex) بمعدل مرة كل ١٥ دقيقة.
- وُضعت العينات بماء مغلي لمدة 1.5 دقيقة.
- رُجت العينات لمدة عشرة ثواني ثم ثُفلت على سرعة 15000 دورة/د لمدة 15 دقيقة بمثفلة أبندورف[٦].

---

[5] ملحق المحاليل

[6] مثفلة تعمل على مبدأ الطرد المركزي

- وُضعت العينات بالبراد لحين الحاجة وأُخذ من كل منها ٢٠ µ L لتحقن ضمن الآبار المخصصة لها عند عملية الترحيل الكهربائي.

2. **تحضير الهلامة**: (تركيز ١٠% Acrylamide)

١,٢ الهلامة الرئيسية (Main Gel):

حُضرت المحاليل التالية:

- محلول A وهو محلول Acrylamide بنسبة ٣٥%
- محلول B وهو محلول Bis Acrylamide بنسبة ٢%
- محلول C وهو محلول 1M Tris PH 8.8
- حُضرت الهلامة بإضافة: 42.9 مل من محلول A + ٩,٧٥ مل من محلولB + ٣٣,٦ مل ماء مقطر+٥٦,٤ مل محلول C.
- سُحبت الفقاعات تحت مضخة تفريغ لمدة ٢٠ دقيقة على الأقل، مع مراعاة أن تكون درجة حرارة الدورق كحرارة اليد.
- أُضيف إلى المحلول السابق وبشكل سريع المواد المسؤولة عن بلمرة المحلول وهي:

  3.75 مل من Ammonium persulfat 1%.

  ١,٥ مل من SDS 10%.

  ٧٥ µ L من مادة Temed.

- حُرك الدورق بسرعة ثم صُبت محتوياته إلى الخلية الحاصلة مابين لوحي الزجاج إلى ما قبل النهاية بـــ ٣ سم ثم حُقن ماء مقطر على السطح بكمية ١مل ليشكل طبقة رقيقة فوق الهلامة التي تُركت لمدة نصف ساعة لحين ملاحظة الخط الفاصل بين الماء والهلامة المتجمدة حينها يتم التخلص من الماء.

٢,٢ الهلامة الثانوية (Stacking Gel):

- حُضر محلول D وهو محلول 1M Tris PH 6.8.
- حُضرت الهلامة بإضافة: ٣,٤٣ مل من محلول A + ٠,٦٨ مل من محلولB + ٣٠,٧ مل ماء مقطر+٥ مل محلول D.
- أزيلت الفقاعات تحت المضخة لمدة ٢٠ دقيقة على الأقل، مع مراعاة أن تكون درجة حرارة الدورق كحرارة اليد .

- أُضيف إلى المحلول السابق وبشكل سريع المواد المسؤولة عن بلمرة المحلول وهي:

١,٥ مل من 1% Ammonium persulfat.

٠,٤ مل من 10% SDS.

٣٠ µ L من مادة Temed.

- حُرك الدورق بسرعة ثم صُبت محتوياته فوق الهلامة الرئيسية حتى يصل مستواها لأعلى الخلية، ثم وُضع المشط الخاص بالعينات وتُرك لمدة ٣٠ دقيقة حتى لوحظ الخط الواضح حول كل بئر والذي يشير لتجمد وبلمرة الهلامة الثانوية.

٣. حقن العينات والرحلان الكهربائي:

- نُقلت الألواح الزجاجية إلى جهاز الرحلان الكهربائي حيث ثُبتت في مواقعها ثم حُقن ٢٠ µ L من كل عينة في البئر المحدد لها بعد إضافة المحلول المنظم للرحلان (محلول٢)[٧].
- ثُبتت شدة التيار الكهربائي أثناء الرحلان على 25 m Amp لمدة ١٤-١٦ ساعة لينتهي بعد ٣٠ دقيقة من خروج الصبغة من الألواح الزجاجية.
- فُكت الألواح الزجاجية ونُزعت الهلامة من فوق الزجاجة وغُسلت بالماء المقطر لمدة ٣٠ دقيقة ثم وُضعت كل هلامة في محلول الصبغة (محلول٣)[٨] لمدة يوم لتنتهي عملية الصبغ عند ظهور الحزم واضحة.
- وُضعت الهلامات المصبوغة بالماء المقطر لحين التخلص من الصبغة الزائدة ثم رُفعت لتتم عملية التصوير والتوثيق، ثم جففت الهلامة بغية حفظها.

استخلاص الغليادين بطريقة A-PAGE:

١. تحضير عينات الغليادين

---

[7] ملحق المحاليل

[8] ملحق المحاليل

استخلص الغليادين من الحبوب وفق طريقة Bushuk and Zillman, (1978) مع بعض التعديلات الطفيفة.

- وُزن ٥٠ ملغ من الحبوب(أو من الحبة) المطحونة ثم أُضيف للعينة ٣,٣% من وزنها ايثانول ٧٠% أي ما يعادل ١٦٥ μ L.
- تركت العينات لفترة ٢,٥ ساعة مع مراعاة الرج على رجاجة أنابيب فردية (Vortex) بمعدل مرة كل ربع ساعة مرة.
- ثُقلت العينات على سرعة ١٥٠٠٠ دورة/د لمدة ١٥ دقيقة بمثقلة أبندورف. بعد انتهاء عملية التثقيل سحب السائل العلوي من الأنابيب وترك الراسب ونقل السائل من كل عينة إلى أنابيب جديدة خاصة بكل عينة وأضيف لكل عينة ٨٥ μ L من الغليسيرين تركيز ٦٠% ليصبح المزيج جاهزاً للرحلان.
- وُضعت العينات بالبراد لحين الحاجة. وعند عملية الترحيل الكهربائي أُخذ من كل عينة ١٥ μ L لتحقن ضمن الآبار المخصصة لها.

٢. تحضير محلول الهلامة: (Gel solution)

- وُزن ٦٠ غ من مادة Acrylamide و ٣ غ من مادة Bis Acrylamide و ٢٤٠ ملغ من مادة حمض الأسكوربيك.
- أُضيف للمزيج السابق ١٠٠-٢٠٠ مل ماء مقطر إضافة لــ٢٠ مل من محلول منظم للرحلان (محلول ٤)[9] ثم أُكمل الحجم حتى ١ ل بالماء المقطر ليتم الترشيح للمحلول كمعاملة أخيرة.

٣. تحضير الهلامة:

- أُخذت كمية ٨٠ مل من المحلول السابق وقسمت إلى حجمين متساويين في دورقين منفصلين (٤٠ مل لكل هلامة).
- أُضيف إلى المحلول السابق وبشكل سريع المواد المسؤولة عن بلمرة المحلول وهي:

٤٥ μ L ماء أكسجيني ٣%.

٤ μ L من سلفات الحديد المائية ٤% .

---

[9] ملحق المحاليل

- حُرك الدورق بسرعة ثم صُبت محتوياته إلى الخلية الحاصلة مابين لوحي الزجاج ووُضعت الأمشاط فوراً مع مراعاة عدم تشكل فقاعات على أسنان المشط.
- تُركت الهلامة للتجمد ثم رُفعت الأمشاط بعد ذلك وغسلت الآبار المتشكلة بواسطة محلول المنظم للرحلان المخفف.
- حقّنت العينات بالغليادين المستخلص بعد إضافة محلول المنظم للرحلان إلى جهاز الرحلان.

رُحل من كل عينة ١٥µL ضمن هلامة أكريلاميد تركيز ٦% قياس (٢٠٠×٢٢٠×١مم) في جهاز الرحلان الكهربائي العمودي من شركة (BioRad) واتسعت كل هلامة لـــ ١٢ عينة إضافة لـــ ٣ عينات من الصنف الشاهد الكندي ماركيز حيث حقن في أول الهلامة وآخرها ومنتصفها. يعطي هذا الصنف عند ترحيله عدداً من الحزم أكثرها وضوحاً وتميزاً هي الحزمة التي تقع بمنتصف المسافة والتي تبلغ حركيتها النسبية (Relative mobility) أو RM=50 بحسب Bushuk and Zillman, (1978)، وبناءً على هذه القيمة فقد حسبت الحركية النسبية لباقي الحزم الناتجة عن ترحيل الأصناف المدروسة.

- ثُبتت شدة التيار الكهربائي أثناء الرحلان على 40 m Amp لمدة ٤ ساعات، مع مراعاة وضع المأخذ الكهربائي بالشكل المعاكس.
- بعد الانتهاء من عملية الرحلان الكهربائي فُكت الألواح الزجاجية، ونُزعت الهلامة من فوق الزجاجة، وغُسلت بالماء المقطر. ثم وُضعت كل هلامة في محلول الصبغة (محلول٣) ثم تركت لتتلون لمدة ١٧ ساعة لتنتهي عملية الصبغ بظهور الحزم الواضحة للغليادين.
- غُمست الهلامات المتلونة بالماء المقطر لمدة ٤ ساعات للتخلص من الصبغة الزائدة، لتصبح بعد ذلك جاهزة للقراءة حيث تم تصويرها بالماسح الإلكتروني (Scanner) ثم جُففت بعد ذلك بغية حفظها.

حددت الصيغ الألليلية لمواقع HMWGS حسب توصيف(Payne and Lawrence, (1983 وحُسبت التغايرات لكل مجموعة غليادين ولكل موقع من مواقع الغلوتينين كما يلي: لكل

حزمة/تحت حزمة، جمع عدد الحبات الشاذة من أصل ٤٨ وسجلت نسبها المئوية، ثم أخذ متوسطات التغايرات لكل مجموعة غليادين وموقع غلوتينين.

التحليل الإحصائي:

أُحصيت نتائج تحليل بروتيني التخزين Glutenin وGliadin في جداول خاصة بكل منها اعتماداً على وجود أو عدم وجود حزم البروتين المرحلة، ورمز لوجود الحزمة بالرقم ١ ولعدم وجودها بالرمز ٠، واستُخدم البرنامج NTSYS:

(Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) (Rholf, 2002) في حساب معامل التشابه الوراثي Jaccard genetic similarity coefficient (Jaccard, 1908) وذلك حسب المعادلة: $GS(ij)=1-[a/(a+b+c)]$ **حيث:**

$GS(ij)$ درجة التشابه بين الفرد j والفرد i.

a عدد حزم البروتين الموجودة في الفردين،

b و c عدد الحزم الموجودة بشكل منفرد في أحد الفردين.

ثم وضع مخطط التحليل العنقودي Cluster analysis، ورسمت شجرة القرابة الوراثية التي توضح التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة بطريقة المتوسط الحسابي للمجموعات الزوجية غير المزانة Unweighted Pair Group Mean Arithmetic Average (UPGMA).

النتائـــــج

أولاً. الكشف عن التباين الوراثي بين أصناف القمح السداسية والرباعية

١. نتائج التحليل بتقنية A-PAGE:

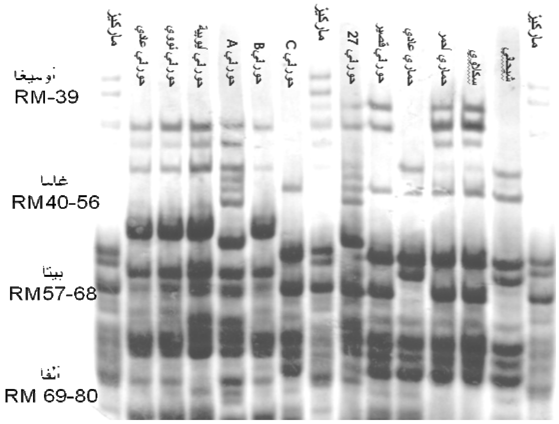
تم فصل الغليادين إلى أربعة مجموعات منفصلة اعتماداً على الحركية النسبية (RM) للحزم المنفصلة كما يلي:

١–ω أوميغا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM أعلى من ٣٩
٢– γ غاما غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين ٤٠–٥٦
٣– β بيتا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين ٥٧–٦٨
٤–α ألفا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين ٦٩–٨٠

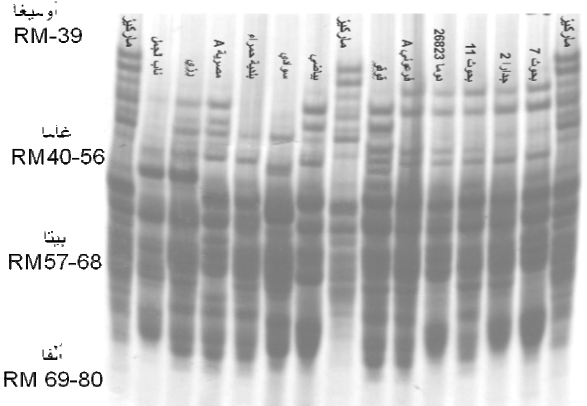
بناءً على هذا التقسيم فقد كان عدد الحزم الناتجة عن التحليل ١٣ حزمة متباينة تم احصاؤها في المنطقة أوميغا وألفا غليادين وذلك لوضوحها وتباينها. وحسبت الحركية النسبية لها بناءً على الحزمة المرجعية للصنف ماركيز الموجودة بمنتصف مسافة الرحلان والتي تبلغ حركيتها النسبية ٥٠. لوحظ اختلاف في تكرارية الحزم بين الأصناف

المدروسة وتراوح من مرة واحدة (unique) أي أن الحزمة ظهرت مرة واحدة في صنف واحد كالحزمة رقم (١) التي ظهرت في الصنف الطري سلموني، أما الحزم الثنائية التي تكررت مرتين فهي الحزمة (١٠) التي ظهرت في الصنفين القاسيين حوراني A وحوراني ٢٧. وتظهر الأشكال (٦) و(٧) و(٨) نواتج فصل الأصناف المدروسة من القمح القاسي باستخدام تقنية A-PAGE. ومن ضمن الحزم الــ ١٣ المتباينة كانت هناك ثلاثة حزم ظهرت ضمن الأصناف الطرية فقط وهي الحزم ١ و ٢ و ٣ بينما كانت الحزمة رقم ١٠ خاصة بالقمح القاسي.ويظهر الجدول (٥) الحركية النسبية لكل من الحزم الناتجة وتكرار الحزم المتباينة ضمن الأصناف المدروسة بتقنية A-PAGE مرتبة تسلسلياً حسب نسبة تكرارها.

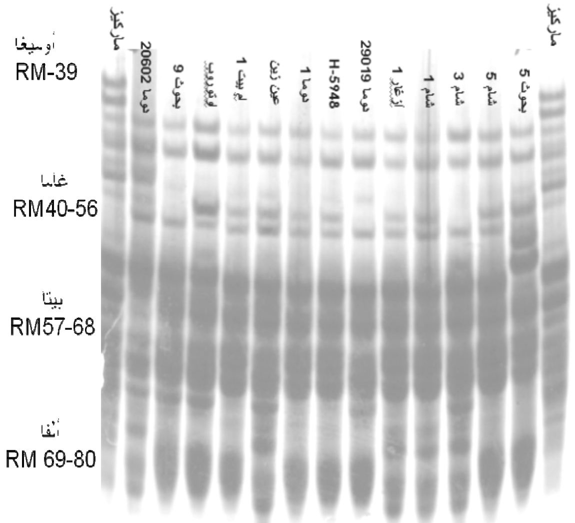
الأشكال(٦، ٧، ٨): نواتج فصل الأصناف المدروسة من القمح القاسي باستخدام تقنية A-PAGE



شكل(٦)



شكل (٧)



شكل (٨)

الجدول (٥): الحركية النسبية لكل من الحزم الناتجة، وتكرار الحزم المتباينة ضمن الأصناف المدروسة بتقنية A-PAGE مرتبة تسلسلياً حسب نسبة تكرارها.

رقم الحزمة	RM	تكرار	الأصناف القاسية	الأصناف الطرية
Reference	٥٠	١		مركيز
1	١٦	١		سويد
2	١٧	١٢		كل أصناف الطري
3	٢٠	١٢		كل أصناف الطري

4	٢١	٢٧	حوراني(٢٧، قصير)، حماري أحمر، سكلاوي فرعوني A، دوما ٢٦٨٢٣، بحوث ١١، جدارا ٢١ بحوث٧ دوما٢٠٦٠٢، بحوث ٩، أوتوروب، أم بيت ١ عين زين، دوما١، H-5948، شام ٧، أزغار١، شام٣ شام ١، شام٥، بحوث٥	سلموني، بريجي بلدية حمراء قندهاري أحمر قندهاري أبيض.
5	٢٦	٣٦	حوراني(عادي، نووي، أيوبية، A، B)، حماري عادي شيحاني، فرعوني A ، دوما ٢٦٨٢٣، بحوث ١١ أوتوروب، أم بيت ١، عين زين، دوما١، H-5948 أزغار١، شام٣، شام٥، بحوث٥	بحوث٦، سلموني٤ بريجي١، قندهاري أحمر، قندهاري أبيض.
6	٢٨	١٦	حوراني(عادي، نووي، أيوبية،A)، حماري أحمر سكلاوي، رزي، مصيريةA، بياضي، قوقو دوما٢٠٦٠٢	سلموني، بريجي سويد، قندهاري أحمر قندهاري أبيض
7	٢٩	٩	رزي، مصيريةA، بلدية حمراء، سوادي، دوما ٢٠٦٠٢	بريجي، بلدية حمراء دوما ٢، شام٨
8	٣٢	٣٠	حوراني (عادي، نووي، أيوبية، A،B)،حماري عادي فرعوني A ، دوما ٢٦٨٢٣، بحوث ١١، أوتوروب أم بيت ١، عين زين، دوما١، H-5948، أزغار١، شام٣ شام٥، بحوث٥	كل أصناف الطري.
9	٤٢	١٢	حوراني (عادي، نووي، أيوبية،B)، ناب الجمل، رزي	بحوث٦، سلموني سويد، بلدية حمراء قندهاري أحمر قندهاري أبيض
10	٤٣	٢	حوراني (A,27)	
11	٤٥	٣٢	حورانيC، حوراني قصير، حماري(عادي،أحمر) سكلاوي، شيحاني، بياضي، قوقو، فرعوني A ، دوما ٢٦٨٢٣، بحوث ١١، جدارا ٢١، بحوث٧ دوما٢٠٦٠٢ بحوث ٩، أوتوروب، أم بيت ١، عين زين، دوما١ H-5948، شام ٧، أزغار١، شام٣، شام ١، شام٥، بحوث٥	سلموني، بريجي بلدية حمراء قندهاري أبيض

12	٤٢	٩	حوراني (عادي، نووي، أيوبية، A، B)، حماري عادي شيحاني، سوادي	بحوث٤
13	٥١	٣٦	حوراني(عادي، نووي، أيوبية، C، ٢٧A، قصير) حماري أحمر، سكلاوي، ناب الجمل، رزي مصيريةA، بلدية حمراء، بياضي، قوقو، فرعوني A دوما ٢٦٨٢٣، بحوث ١١، جدارا٢١، بحوث٧، دوما ٢٠٦٠٢ بحوث ٩، أوتوروب، أم بيت ١، عين زين دوما١ H-5948، شام ٧، أزغار١، شام٣، شام ١ شام٥، بحوث٥	سلموني، بريجي بلدية حمراء قندهاري أبيض

يظهر الجدول (٥) أن الأصناف التي حملت الحزمة ٤٥ ذات الدلالة على جودة العجينة ضمن الأصناف القاسية هي: حورانيC، حوراني قصير، حماري(عادي،أحمر) سكلاوي، شيحاني بياضي، قوقو، فرعوني A، دوما ٢٦٨٢٣، بحوث ١١، جدارا ٢١، بحوث٧ دوما٢٠٦٠٢ بحوث ٩، أوتوروب، أم بيت ١، عين زين، دوما١ H-5948، شام ٧، أزغار١، شام٣، شام ١، شام٥، بحوث٥. أما الأصناف المحتوية على الحزمة ٤٢ ذات الدلالة على العجينة السيئة فهي حوراني (عادي، نووي، أيوبيةB)، ناب الجمل، رزي. أي أن الأصناف التي تم تسجيل الحزمة ٤٢ ضمنها لم يلاحظ وجود للحزمة ٤٥ ضمنها والعكس صحيح.

٢. نتائج التحليل بتقنية SDS-PAGE:

دُرست تحت وحدات الغلوتينين ذات الوزن الجزيئي المرتفع HMWGS. ويبين الجدول(٦،٧) توصيفاً للأقماح المدروسة من حيث ألليلات مواقع HMWGS الثلاثة حيث تبين وجود عدد من تحت الحزم الألليلية المختلفة توزعت ضمن الأصناف المدروسة وفق التالي:

١. الأقماح القاسية:

احتوت معظم هذه الأصناف على الألليل Null في الموقع GluA1، باستثناء الصنف ناب الجمل الذي تميز بوجود تحت الحزمة ١، وسلالات الحوراني (عادي، نووي B)، والصنفين حماري أحمر وسكلاوي واحتوت جميعها على الحزمة ٢*. كما تبين وجود ١١ صنفاً

احتوت على تغاير وراثي ضمن الموقعGlu-B1 . وتجدر الإشارة إلى أن سلالات الحوراني

الأصناف القاسية	Glu-A1	Glu-B1	الأصناف القاسية	Glu-A1	Glu-B1

من ١–٦ كانت جميعها متغايرة وراثياً ضمن هذا الموقع، واحتوت السلالات الخمسة الأولى على الألليلين ٦+٨ و ٦+٩ بينما احتوت السلالة حوراني C على الألليلين ٧+٨ و ١٧+١٨.

١	حوراني عادي	2*	6+8,6+9	٢٠	فرعونيA	null	١٨+١٧
٢	حوراني نووي	2*	6+8,6+9	21	دوما ٢٦٨٢٣	null	١٨+١٧
٣	حوراني أيوبية	null	6+8,6+9	22	بحوث١١	null	٨+٧
٤	حوراني A	null	6+8,6+9	23	جدارا ٢١	null	٨+٦
٥	حوراني B	2*	6+8,6+9	24	بحوث٧	null	١٨+١٧
٦	حوراني C	null	7+17,8+18	25	دوما٢٠٦٠٢	null	١٨+١٧
٧	حوراني ٢٧	null	١٨+١٧	26	بحوث٩	null	٨+٧
٨	حوراني قصير	null	6+8,6+9	27	أوتوروب	null	٨+٧
٩	حماري عادي	null	6+8,6+9	28	أم بيت ١	null	٨+٧
١٠	حماري أحمر	2*	١٨+١٧	29	عين زين	null	٨+٦
١١	سكلاوي	2*	١٨+١٧	30	دوما١	null	١٨+١٧
١٢	شيحاني	null	6+8,9	31	H-5948	null	٨+٧
١٣	ناب الجمل	1	٨+٧	32	شام٧	null	٨+٧
١٤	رزي	null	٩+٧	33	أزغار١	null	٨+٦
١٥	مصيرية A	null	١٨+١٧	34	شام ٣	null	٨+٦
١٦	بلدية حمراء	null	6+8,9	35	شام ١	null	١٨+١٧
١٧	سوادي	null	١٨+١٧	36	شام ٥	null	١٨+١٧
١٨	بياضي	null	١٨+١٧	37	بحوث ٥	null	٨+٦
١٩	قوقو	null	6+8,9				

الجدول (٦-أ): توصيف الأقماح القاسية المدروسة من حيث ألليلات مواقع HMWGS .

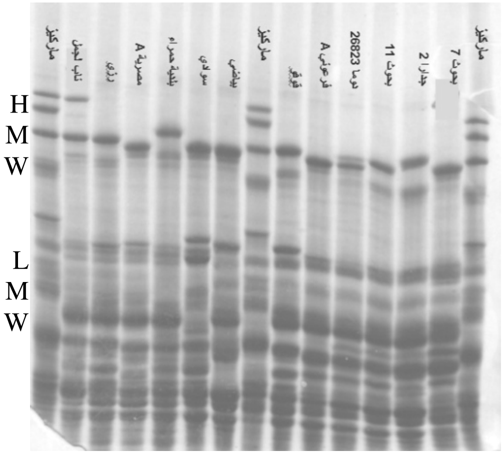
٢. الأصناف الطرية:

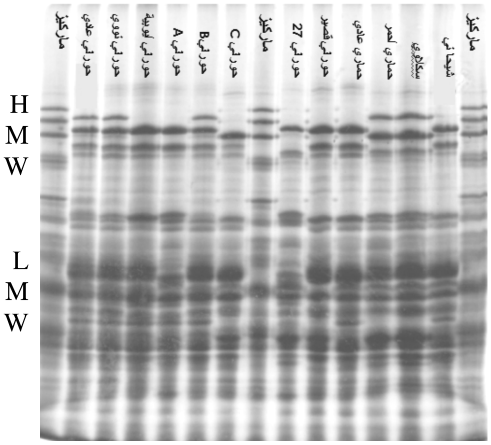
احتوت معظم الأصناف الطرية (جدول ٧) على الأليل ٢* في الموقع Glu -A1. ووُجدت تحت الحزمة ١ في الصنف دوما ٢، بينما وُجد الأليل Null في الصنف شام ٤. أما بالنسبة للموقعGlu-B1 فقد أظهرت النتائج وجود ٤ أليلات فيه، كان أكثرها تكراراً تحت الحزمتين الأليليتين ٧+٩ و ١٧+١٨. وتبين وجود صنف واحد احتوى على تغايرية وراثية في هذا الموقع، وهو الصنف بلدية حمراء الذي احتوى على الأليلين ٧+٨ و ١٧+١٨. وعند الانتقال للموقع Glu-D1 لوحظ وجود ٨ أصناف من أصل ١٢ صنفاً تحوي على تحت الحزمتين ٢+١٢ المرتبطتين بالنوعية الضعيفة للعجين. ووجدت ٣ أصناف محتوية على تحت الحزمتين الأليليتن ٥+١٠ والمرتبطين بالنوعية القوية للعجين وهي فلورنس أورور، بحوث٤، شام ٨. تجدر الإشارة لوجود تغاير وراثي في هذه المواقع في صنف دوما ٢ فقط والذي احتوى على الأليلين المتناقضين ٥+١٠ و ٤+١٢ علماً أن تحت الحزمتين الأخيرتين هما المؤشر الأضعف لنوعية العجين.

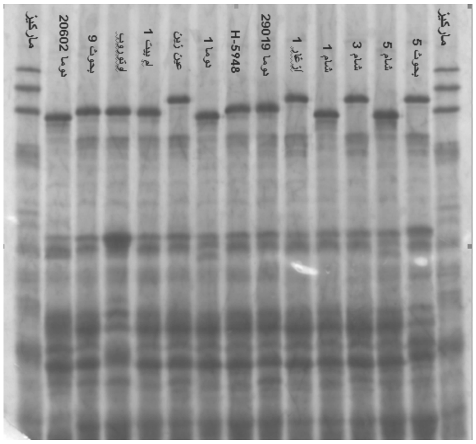
الجدول (٦-ب):توصيف الأقماح الطرية المدروسة من حيث أليلات مواقع HMWGSالثلاث.

الأصناف الطرية		Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1
1	بحوث٦	2*	١٨+١٧	١٢+٢
2	سلموني	2*	٩+٧	١٢+٢
3	بريجي	2*	٩+٧	١٢+٢
4	سويد	2*	٩+٧	١٢+٢
5	بلدية حمراء B	2*	7+8,17+18	١٢+٢
6	دوما ٢	1	٧	١٢+٤،١٠+٥
7	قندهاري أحمر	2*	٨+٧	١٢+٢
8	فلورنس أورور	2*	٧	١٠+٥
9	بحوث ٤	2*	١٨+١٧	١٠+٥
10	شام ٤	null	٨+٧	١٢+٢
11	شام ٨	2*	٧	١٠+٥
12	قندهاري أبيض	2*	١٨+١٧	١٢+٢

وتظهر **الأشكال (٩، ١٠، ١١)**: نواتج فصل الغلوتينين في الأصناف الرباعية.





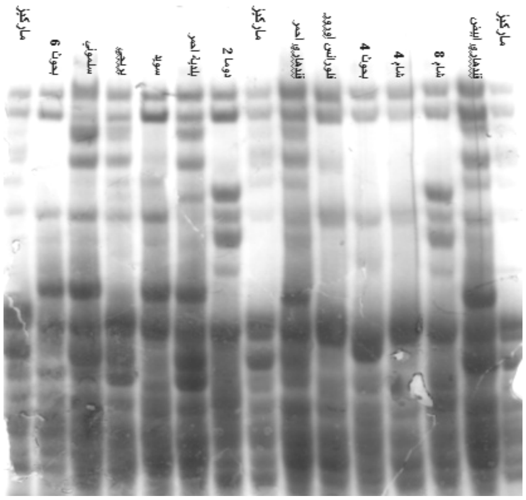


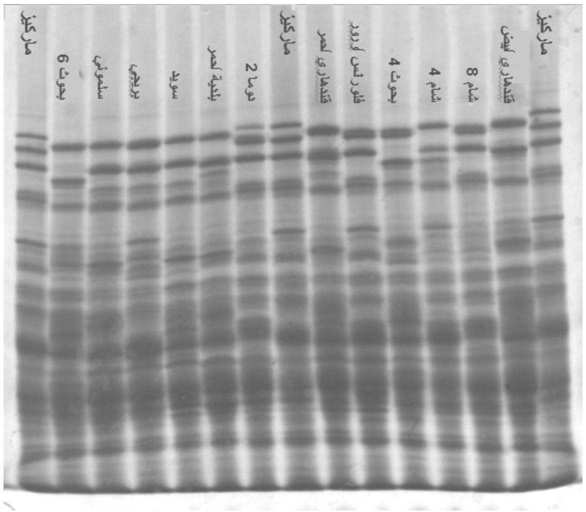
شكل (٩)

شكل (١٠)

شكل (١١)

أما **الشكلين (١٢، ١٣)**: فيظهران نواتج فصل الغليادين والغلوتينين على التوالي لأصناف القمح السداسية المدروسة.

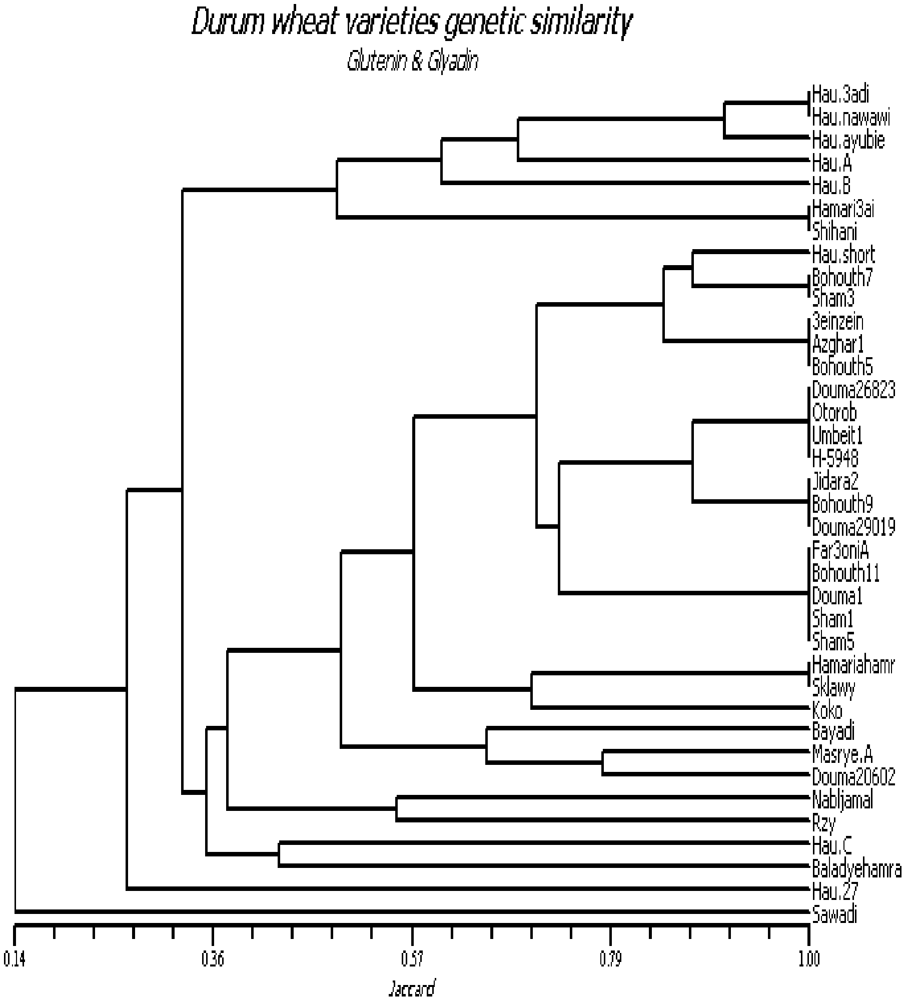




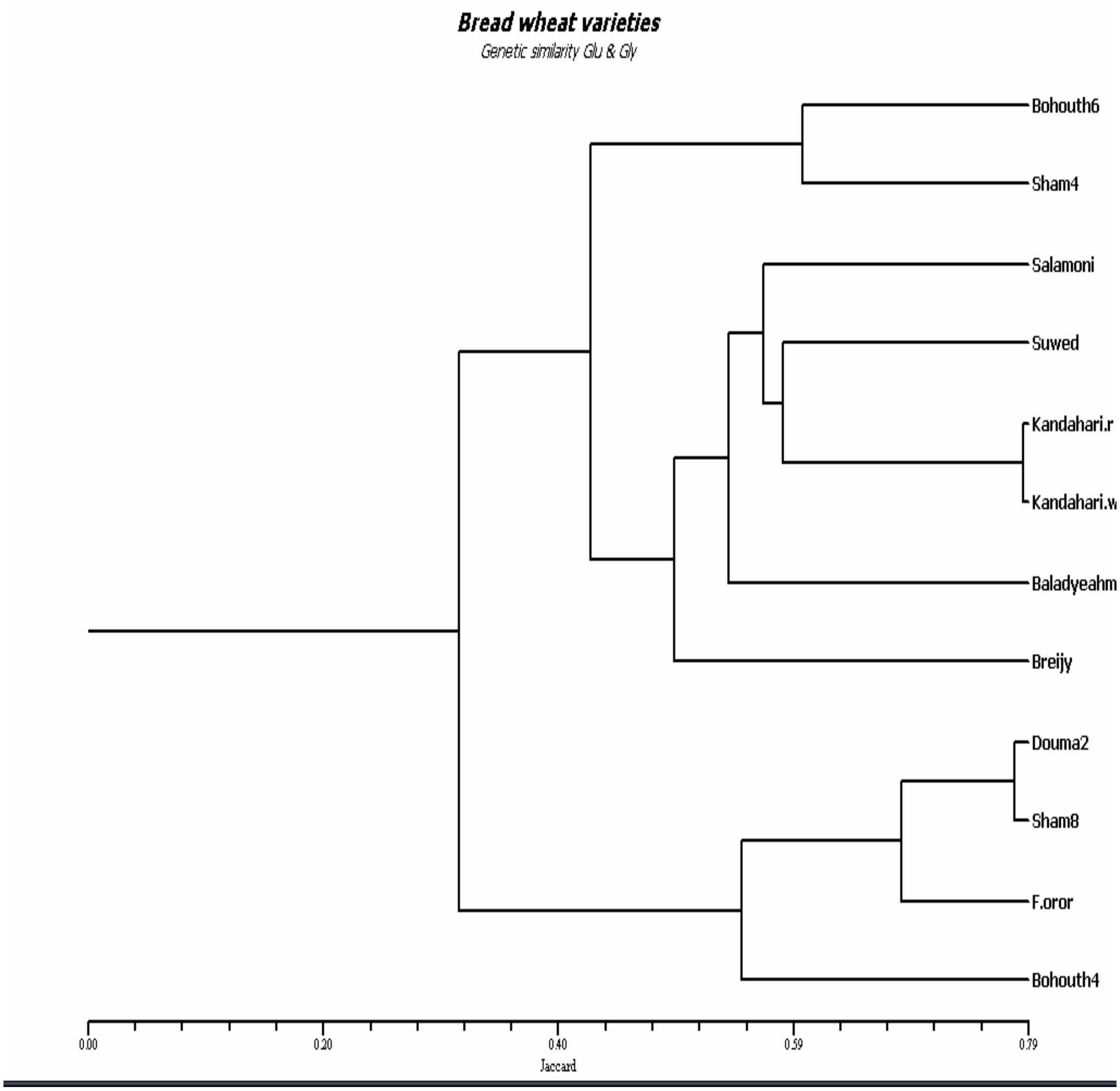
شكل(١٢)

شكل(١٣)

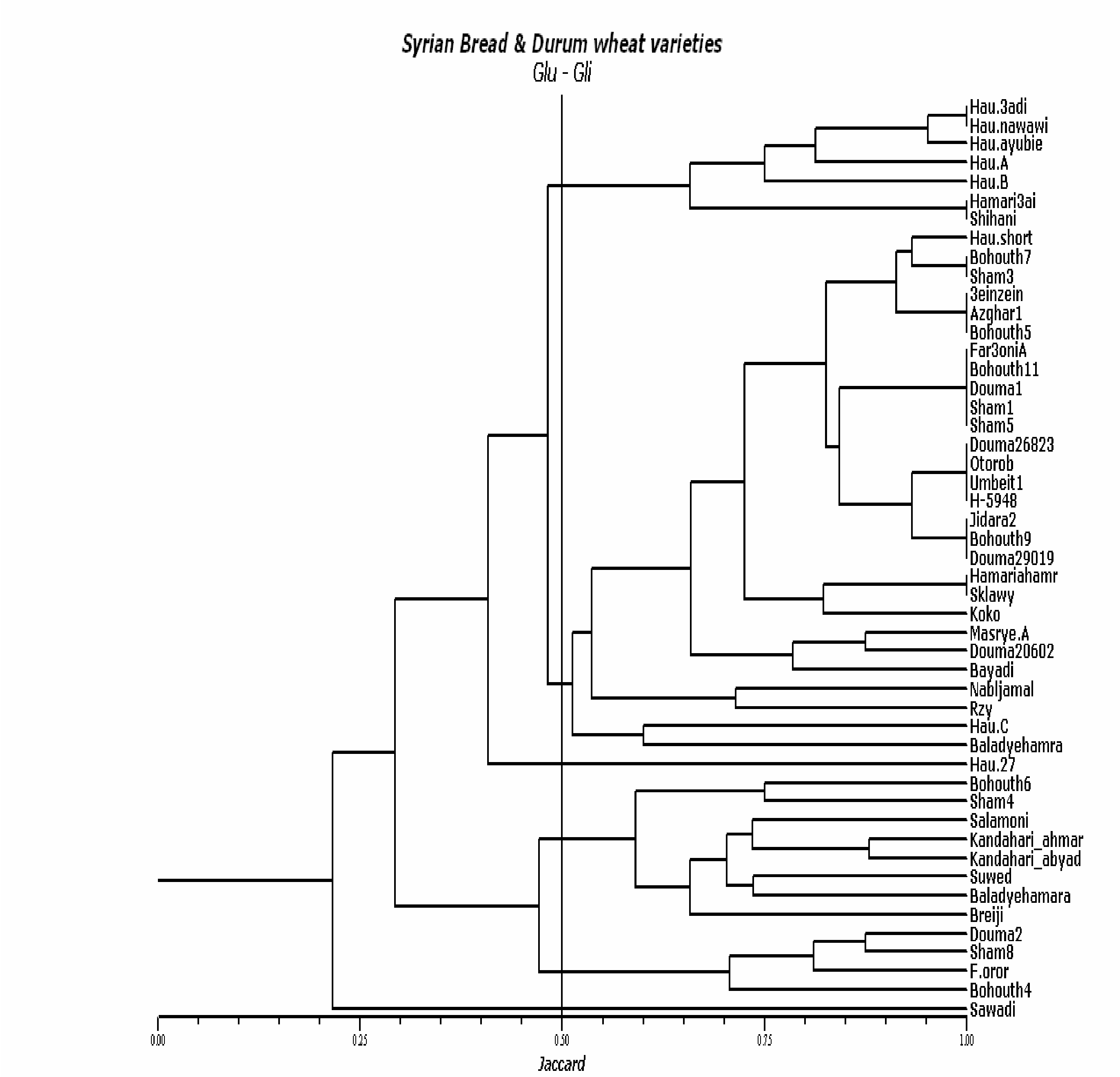
جمعت البيانات الناتجة عن التقانتين وكان العدد الكلي للحزم ٢٥ حزمة متباينة. وبعد إدراجها ضمن البرنامج الإحصائي، أمكن الحصول على شجرة القرابة الوراثية لكل من أصناف القمح القاسي (شكل ١٤)، والقمح الطري (شكل ١٥)، ثم شجرة القرابة الوراثية للأصناف الطرية والقاسية سويةً ضمن مخطط واحد (شكل١٦) والتي تظهر التشابه الوراثي مابين هذه الأصناف، ومجموعات الفصل الناتجة التي ضمت الأصناف المدروسة بحسب القرابة الوراثية لها بناءً على مجمل بيانات التقانتين.



الشكل (١٤): مخطط التحليل العنقودي للعلاقات الوراثية (Phylogenetic) بين الأصناف القاسية المدروسة باستخدام معامل Jaccard للتشابه الوراثي استنادا لبيانات تقانتي A-PAGE و SDS-PAGE.



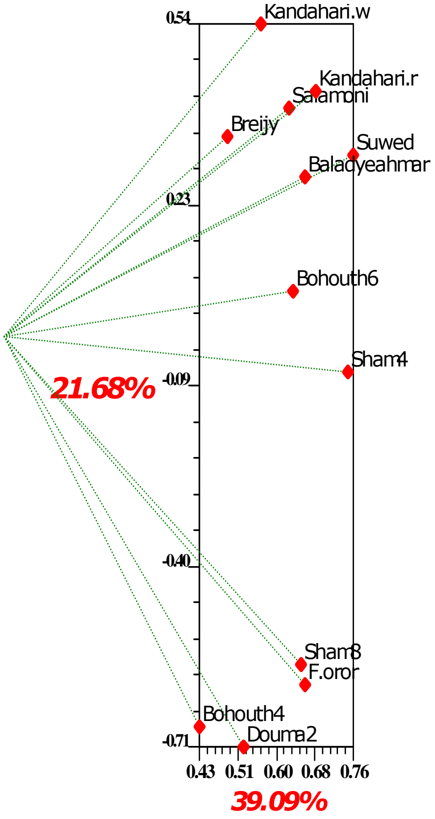
الشكل (15): مخطط التحليل العنقودي للعلاقات الوراثية (Phylogenetic) بين الأصناف الطرية المدروسة باستخدام معامل Jaccard للتشابه الوراثي استناداً لبيانات تقانتي A-PAGE و SDS-PAGE.



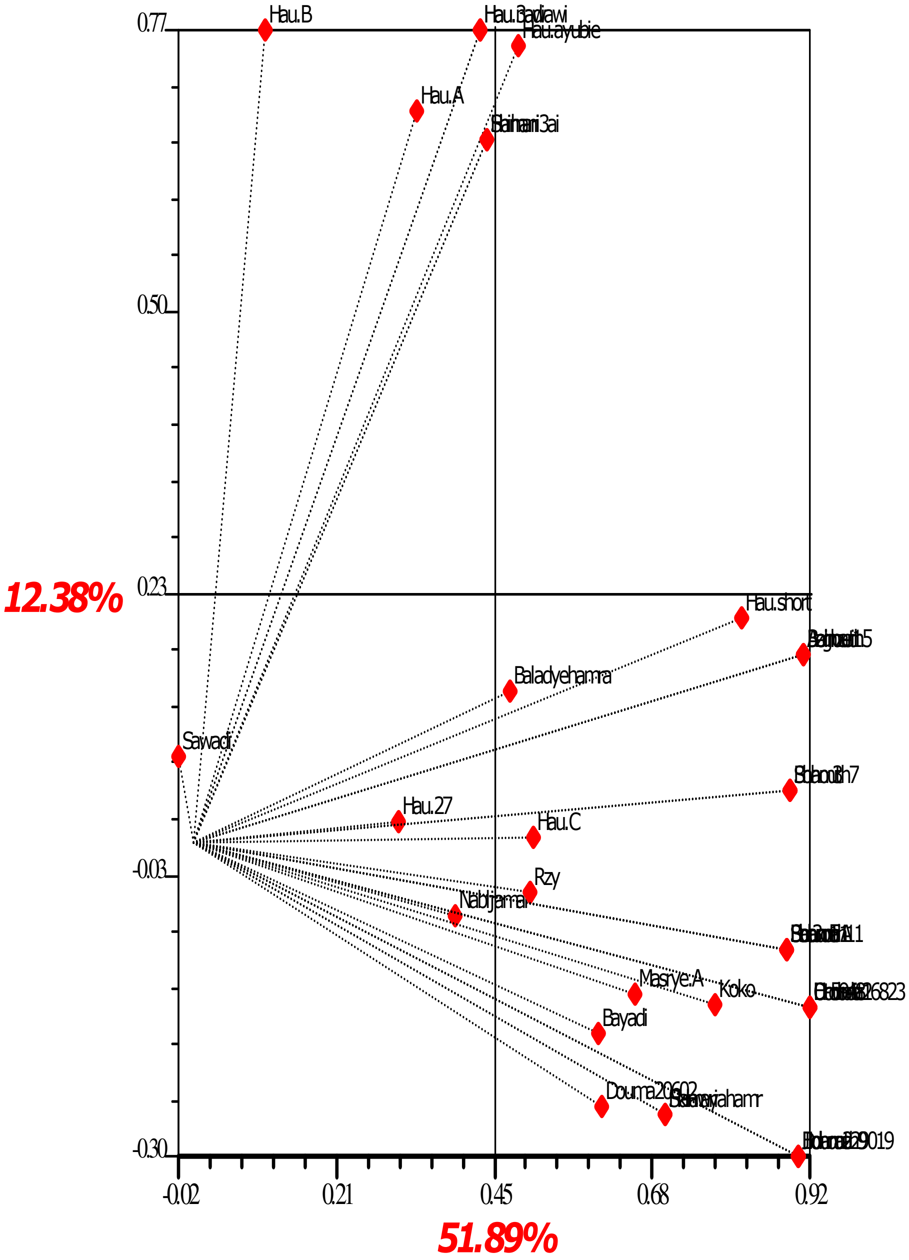
لشكل (١٦). مخطط التحليل العنقودي للعلاقات الوراثية (Phylogenetic) بين الأصناف الطرية والقاسية المدروسة باستخدام معامل Jaccard للتشابه الوراثي استناداً لبيانات تقانتي A-PAGE و SDS-PAGE.

اختبار Principal Compenenet Analysis (PCA):

استُخدمت نفس البيانات المجمعة لإجراء اختبار (PCA) وذلك لدراسة نوعية العلاقة بين الأصناف المدروسة. ومن الشكل(١٧) نجد أن مكونات هذا الاختبار قد حُسبت لتشكل 60.97% من التباينات الكلية. وبالنسبة للقمح الطري توزعت بنسبة 39.09 % على المحور الأول و 21.68% على المحور الثاني. أما بالنسبة للقمح القاسي (شكل ١٨) فقد شكلت مكونات PCA 64.٢١% تقريباً من التباينات الكلية، حيث ظهرت 51.89% من هذه الاختلافات على المحور الأول بينما أظهر المحور الثاني 12.38 % منه. وعند مقارنة المجموعات المتشكلة عن طريق إجراء هذا التحليل بمثيلاتها المتشكلة عن طريق التحليل العنقودي باستخدام معامل (UPGMA) طريقة المتوسط الحسابي للمجموعات الزوجية غير المزانة SHAN نجد تشابهاً كبيراً في المجموعات المتشكلة بكلتا الطريقتين.



الشكل (١٧): تحليل PCA للعلاقات الوراثية (Phylogenetic) بين الأصناف الطرية المدروسة استناداً لبيانات تقانتي A-PAGE و SDS-PAGE.



الشكل (١٨). تحليل PCA للعلاقات الوراثية (Phylogenetic) بين الأصناف القاسية المدروسة استناداً لبيانات تقانتي A-PAGE و SDS-PAGE.

المناقشة

يحتوي القمح الرباعي المزروع *Triticum durum* Desf. كما هو معروف على المجموعتين الصبغيتين A و B، أما القمح السداسي *Triticum aestivum* L. فيحتوي على ثلاث مجموعات صبغية A و B و D . وقد دلت الدراسات الوراثية أن المورثات المسؤولة عن بروتينات التخزين ذات سيادة مشتركة (Mechan *et al.*,1978; Payne *et al.*,1981; Payne et al.,1987; Gupta and Shephered 1990a).

ويُعتقد أن التباينات الوراثية الموجودة داخل كل موقع وراثي هي المسؤولة عن التباينات بين الأصناف فيما يتعلق بنوعية البروتين والتي يعبر عنها بظاهرة مايسمى (Gene silencing) أو المورثات التي لم تعبر عن نفسها (الصمت المورثي) (Payne *et al.*,1981; Mir Ali *et al.*,1999 a,b).

وبالعودة إلى نتائج هذا البحث، نجد أن الحزم الناتجة عن استخدام تقنية A-PAGE كانت ١٣ حزمة تم إحصاؤها من المنطقة ω أوميغا غليادين، وγ غاما غليادين فقط لصعوبة وعدم وضوح الحزم في المناطق β بيتا غليادين و α ألفا غليادين، وهذا يعكس نسبة لابأس بها من التباينات الوراثية ضمن هذه المواقع، وهذا ماعبر عنه Pogna *et al.*,(1993) حينما أقر بوجود من ٣-١٠ مورثات نشطة ضمن كل موقع من مواقع الغليادين (*Gli-1* loci). كما ذكر Mechan *et al.*, (1978) أن توريث الغليادينات يتم بمجموعات مرتبطة وعلى كل من هذه المواقع مدى واسع من الأليلات.

أما بالنسبة لتقنية SDS-PAGE فمن الناحية النظرية يمكن أن يحتوي القمح الطري على ستة تحت وحدات HMW-GS. وقد تم تسجيل بعض الأصناف السداسية التي تحتوي منطقة HMW فيها على ستة وحدات كما أورد كل من Johansson *et al.*, (1993) ; Margiotta *et al.*, (1996) ولكن في الغالبية العظمى من الحالات يظهر ٣-٥ تحت وحدات فقط بسبب وجود ظاهرة المورثات التي لم تعبر عن نفسها كما ذُكر سابقاً.

في دراستنا هذه بلغ عدد تحت الوحدات الكلية المتباينة ١٢ تحت وحدة بمعدل من٣-٥

تحت وحدات لكل صنف سواء بالنسبة للأصناف الطرية أو القاسية. وهذه النتيجة تتوافق مع ما وجده Mir Ali., *et al.*, (1999a) على الأقماح الطرية السورية حيث تراوحت تحت

الوحدات من ٤–٥ لكل صنف. أما في الأقماح القاسية التي تفتقر إلى المجموعة الصبغية D فإن العدد النظري هو ٤. ووجد Mir Ali., *et al.*, (1999b) في دراسة على الأقماح القاسية السورية أن عدد الحزم الكلي في منطقة HMW-GS تراوح بين ٢–٣ للصنف الواحد نظراً لوجود المورثة غير المعبرة عن نفسها على المجموعة الصبغية A في نسبة لا بأس بها من الأصناف. جدير بالذكر أن الصنف القاسي ناب الجمل قد تفرد بوجود تحت وحدة عالية الوزن الجزيئي وذات درجة ترحيل نسبية قليلة بشكل يمكن أن يحدث التباساً بأنه يتبع الأقماح السداسية الطرية التي غالبا ما يوجد لديها تحت حزم على نفس درجة الترحيل هذه والتي تعزى لوجود المجموعة الصبغية D. جدير ذكره أن الأقماح البرية الرباعية والتي تفتقر أيضا إلى المجموعة الصبغية D تمتلك تحت حزم مشابهة بالوزن الجزيئي والتي فُقدت من الأقماح الرباعية الحديثة بفعل عمليات التربية، ونجم عن ذلك انخفاض بنسبة البروتين ترافق مع زيادة الإنتاجية بشكل عام (Mir Ali., 1987). لذلك نعتقد أن هذا الصنف لا يزال يحمل هذا الألليل من الأسلاف البعيدة.

تشير نتائج تطبيق تقنية SDS-PAGE لأهمية استخدامها ليس فقط في الكشف عن درجة النقاوة، وإنما أيضاً لمتابعة تنقية الأصناف للوصول إلى سلالات تحوي تحت الحزم المفضلة وتجميعها في سلالة أو صنف واحد. بالنسبة للموقع GluA1 فقد أشارت الدراسات إلى أن تحت الحزمتين ١ و ٢* ذواتا تأثير إيجابي متشابه في نوعية العجين وكلتاهما أفضل من تحت الحزمة Null.

تختلف أهمية الأليلات الموجودة ضمن المواقع الثلاثة باختلاف السلالات المدروسة. ولكن بشكل عام، يعتبر الموقع GluD1 هو الأهم في تحديد نوعية العجين في القمح الطري، كوجود تحت الحزمتين الألليليتين 5+10 اللتين تدلا على نوعية العجينة الجيدة، يليه الموقع GluB1 الذي يحتوي على تحت الحزمتين ٧+٨ و١٧+ ١٨ ذواتا الدلالة على نوعية العجينة الجيدة ضمن الأصناف القاسية فقط. واختلف الباحثون في أولوية تحت الوحدات هذه من حيث أهميتها في هذه العجينة. حيث وجد Mir Ali (1995) أن تحت الحزمتين ١٧+١٨ لها أثر أقوى من ٧+٨ في قوة العجين ضمن الأصناف القاسية.

أما بالنسبة لشجرة القرابة الوراثية الناتجة عن مخطط التحليل العنقودي للأصناف الرباعية (الشكل١٤)، فنجد أن الأصناف قد فُصلت عن بعضها وأُدرجت ضمن ثلاثة عناقيد:

الأول: وضم أقل عدد من الأصناف القاسية الرباعية وهي حوراني عادي، حوراني نووي، حوراني أيوبية، حوراني A، حوراني B، حماري عادي، شيحاني.

الثاني: وشمل العدد الأكبر من الأصناف (٢٤ صنف) حوراني قصير، بحوث٧، شام٣، عين زين أزغار١، بحوث٥، فرعونيA، بحوث١١، دوما١، شام١، شام ٥، دوما ٢٧٨٢٣، أوتوروب، أم بيت، H-5948، جدارا ٢، بحوث٩، شام ٧، حماري أحمر سكلاوي، قوقو.

الثالث: وضم الأصناف الأكثر تنوعاً ضمن المجموعة المدروسة حيث شكل كل صنف نموذجاً خاصاً ومنفرداً. وبلغ عدد الأصناف ضمن هذا العنقود ٨ وهي مصيريةA دوما ٢٠٦٠٢، بياضي، ناب الجمل، رزي، حوراني C، بلدية حمراء،حوراني ٢٧.

الرابع: وضم الصنف سوادي فقط، وهوصنف قاسي مدخل قديم.

أما بالنسبة للأصناف التي تحمل نماذج (Patterns) متطابقة مع غيرها من الأصناف فقد وُجدت بأعلى نسبة لها ضمن العنقود الثاني حيث بلغ عددها ٦ نماذج متطابقة وهي مابين الأصناف التالية:

- نموذج١ (بحوث٧ وشام٣).
- نموذج ٢(عين زين وأزغار١ وبحوث ٥).
- نموذج٣ (فرعونيA وبحوث ١١ ودوما١ و شام١ وشام٥).
- نموذج ٤ (دوما ٢٦٨٢٣ وأوتوروب وأم بيت و H-5948).
- نموذج ٥ (جدارا ٢ و دوما وبحوث٩ وشام ٧).
- نموذج ٦ (حماري أحمر وسكلاوي).

أما العنقود الأول فقد ضم نموذجين شمل كل منهما صنفين متطابقين:

- الأول نموذج ٧ (حوراني عادي وحوراني نووي)،
- والثاني نموذج ٨ (حماري عادي وشيحاني).

وبهذا يبلغ عدد النماذج الناتجة عن عملية الرحلان الكهربائي باستخدام تقانتي A-PAGE و SDS-PAGE ٢١ نموذج رحلان من أصل ٣٨ صنف حيث تميز ١٣ صنفاً بنماذج رحلان مفردة متغايرة مميزة لكل صنف على حدة أي أن نسبة التنوع الوراثي ٥٦%. تعكس هذه النتيجة نسبة من التنوع الوراثي لابأس بها إذا ماقورنت بما حصل عليه Wei *et al*., (2000) عندما وجد أن نسبة النماذج المتطابقة كانت ٨٧ من أصل ٨٩ أي نسبة النماذج المتطابقة ٩٧,٨% وهي نسبة كبيرة إذا ماقورنت مع نسبة النماذج المتطابقة في هذه الدراسة وهي٣٨%، وهذا مايعكس ارتفاع نسبة التنوع في الأصناف المدروسة.

وبالعودة إلى النماذج المتطابقة في العنقود الثاني نجد أن النموذج الأول ضم الصنفين المحسنين بحوث ٧ وشام ٣، وضم النموذج الثالث ٤ أصناف محسنة وصنف محلي واحد (فرعونيA)، وربما يعود سبب انخفاض نسبة التنوع بين الأصناف المحسنة إلى أن الإنتخاب كان يتم من قبل المربين بهدف تحسين صفات متشابهة مما أدى لانعدام أو انخفاض المسافات الوراثية بينها، أي أنها كانت تعطي تطابق في تحت وحدات الغلوتينين والغليادين وهذا ماوجده كل من Fufa *et al*., (2005); Shuaib *et al*.,(2007) حيث أقر الأول بأن التنوع الوراثي بالإعتماد على بروتينات التخزين كان الأقل، وفسر هذا بأن الصفة المنتخبة كانت لبروتينات التخزين وهي صفة استخدمت بشكل كبير في عمليات الانتخاب ضمن برنامج التربية. هذه النتيجة أكدها Baenziger *et al*.,(2001) حيث ذكر أن إجراءات التربية الجديدة قد أدت لانخفاض مستوى التنوع الوراثي في الأصناف المحسنة وخاصة إذا كانت الصفة نوعية Qualitative trait، أي أن المورثات المسؤولة عن توريثها قليلة. أما وجود الأصناف المحلية مع الأصناف المحسنة ضمن نفس النموذج المتطابق فقد يعود للخلط الميكانيكي بين بذور الأصناف أثناء الحصاد، أو أثناء نقل وتوزيع البذار، وهذا ما سيتم دراسته لاحقاً للتأكد من وجود أو عدم وجود خلط، ونوعية هذا الخلط سواء أكان وراثياً أم ميكانيكياً كما بين Mir Ali (2000).

أما بالنسبة للنموذج الذي يحوي سلالات حوراني متطابقة وفق نتائج الرحلان الكهربائي فهي نتيجة طبيعية ومنطقية، إذ أن سلالات الحوراني كلها منحدرة من أب واحد، وبالتالي فإن التشابه الوراثي بينها مرتفع. وفي الحقيقة إذا عدنا إلى المخطط السابق

نجد أن سلالات الحوراني قد جُمعت كلها ضمن عنقود واحد عدا الصنف حوراني C والصنف حوراني ٢٧ الذي كان الصنف الأكثر بعداً عن كافة أصناف القمح القاسي الباقية. يعود سبب هذا البعد الوراثي إلى تطبيق الإنتخاب الفردي على الصنف الأصلي حوراني والذي يعتبر landrace ويتألف من عدة سلالات مختلفة وراثياً سواء في الخصائص الإنتاجية أو في محتوى الحبوب من البروتين ضمن برامج التربية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية (معلا وحلواني، ١٩٨٧).

لوحظ أيضاً ضمن المخطط وجود قرابات وراثية مابين بعض الأصناف المحلية والأصناف المحسنة ويُفسر هذا بأن الأصناف المحسنة هي أصناف منحدرة من السلالات المحلية ولوجود تهجينات فيما بينها.

وبدراسة شجرة القرابة مابين الأصناف الطرية (الشكل ١٥) يلاحظ أن نسبة التباين الوراثي بين الأصناف الطرية هي أعلى من مثيلتها بين أصناف القمح القاسي. فعلى الرغم من أنه هناك مسافة وراثية قليلة جداً بين الصنفين قندهاري أبيض وقندهاري أحمر واللذان يختلفان فيما بينهما بحزمة واحدة فقط، إلا أننا نجد أن كلاً منهما قد أعطى نموذج رحلان خاص به، وبالتالي فقد كانت نسبة التنوع الوراثي ضمن الأصناف الطرية ١٠٠%. هذه النتيجة مشابهة للنتيجة التي حصل عليها Mir Ali (2000) عندما درس مستوى التنوع الوراثي ضمن أصناف قاسية وطرية قديمة ومحسنة سورية باستخدام نفس التقانتين ووجد أن أعلى نسبة للتباين كانت في الصنفين الطريين شام٤ ومكسيباك. أما دراسة شجرة القرابة التي تضم الأصناف الطرية والقاسية كافة (الشكل ١٦) فتظهر انفصال الأصناف الطرية في عنقود مستقل وطرفي عن العنقود الكبير الذي يضم الأصناف القاسية. ويعود مرد هذا الإنفصال لوجود المجموعة الصبغية D المتفردة في الأصناف الطرية والتي تم التعبير عنها عملياً بوجود الحزم الثلاث الأولى الخاصة بالغليادين والحزمة التاسعة الخاصة بالغلوتينين. أما القرابة الوراثية مابين الأصناف الطرية والقاسية فتعود لوجود المجموعتين الصبغيتين المشتركتين بينهما A و B.

يستنتج مما سبق أن بروتينات التخزين هي مؤشر مفيد لتوصيف الأصناف، ودراسات التنوع الوراثي، وتسجيل أصناف جديدة واختبارات النسب. إلا أنه ينصح

بتدعيم هذه الدراسة بدراسات تعتمد على مؤشرات أخرى كمؤشرات DNA والمؤشرات المورفولوجية مما يؤدي لزيادة فعالية وموثوقية برامج تربية القمح.

ثانياً.دراسة نقاوة بعض أصناف القمح الطري والقاسي المحسنة والبلدية في سورية.

١. نتائج التحليل بتقنية A-PAGE:

تم فصل الغليادين إلى أربعة مجموعات α، β، γ، و ω اعتماداً على الحركية النسبية (RM) للحزم المنفصلة، وتراوح عدد الحزم الكلية من ١٤ حزمة كما في الصنف القاسي شام ٥ إلى ٢٣ حزمة في الصنف الطري قندهاري أحمر(جدول ٧). ومن المعروف أن أول حزمة غليادين مميزة للأصناف القاسية تظهر عند RM > ٢٠، بينما تظهر أول حزمة مميزة للأصناف الطرية عندRM= ١٢–١٥. يتبين من الجدول (7) أيضاً أن المنطقة ω غليادين احتوت بالمتوسط العدد الأكبر من الحزم في جميع الأصناف القاسية والطرية، تلتها المنطقة γ ثم β و أخيرا α غليادين. أما في الأصناف القاسية، فقد تميز الصنف ناب الجمل بالعدد الأكبر من الحزم في كل مناطق الرحلان، بينما كان الصنف المحسن شام ٥ الأقل بعدد الحزم. وفي الأصناف الطرية كان الصنف البلدي قندهاري أحمر يحمل العدد الأكبر من الحزم، بينما تميز الصنف البلدي سويد بأقل عدد من الحزم.

جدول(٧): عدد الحزم الموجودة ضمن كل منطقة من مناطق فصل الغليادين.

المجموعة الأصناف		α	β	γ	ω	عدد الحزم الكامل
القاسية	حوراني ٢٧	٤	٣	٤	٦	١٧
	شام ٥	٣	٤	٣	٤	١٤
	ناب الجمل	٣	٤	٧	٦	٢٠
متوسط		٣,٣٣	٣,٦٦	٤,٦٦	٥,٣٣	١٧
الطرية	قندهاري أحمر	٤	٣	٥	١٠	٢٢

	بحوث ٦	٤	٦	٦	٣	١٩
	سويد	٣	٥	٥	٤	١٧
متوسط		**٣,٦٦**	**٤,٦٦**	**٥,٣٣**	**٥,٦٦**	**١٩,٣٣**

أما الجدول(٨) فيظهر النسب المئوية لتوزع الحزم المتباينة (Polymorphism) الناتجة ضمن مجموعات الغليادين في الأصناف المدروسة.

جدول (٨): النسبة المئوية لتوزع الحزم المتباينة ضمن مجموعات الغليادين.

	المجموعة **الأصناف**	α	β	γ	ω
القاسية	حوراني ٢٧	٠	٠	٧٥	٨٣
	شام ٥	٠	٠	٣٣	٠
	ناب الجمل	٠	٠	٥٧	٨٣
الطرية	قندهاري أحمر	٠	٣٣	٠	٨٠
	بحوث ٦	٠	٠	٣٣	٣٣
	سويد	٠	٠	٦٠	٥٠

بشكل عام تميزت منطقة α غليادين بعدم وجود أي تباينات فيها وذلك في جميع الأصناف المدروسة، وكذلك الأمر بالنسبة لمنطقة β غليادين، باستثناء الصنف قندهاري أحمر الذي احتوى نسبة قليلة من التباينات في هذه المنطقة. في حين تميزت المنطقتان γ و ω غليادين بوجود تباينات وراثية في كل الأصناف، باستثناء الصنف قندهاري أحمر الطري، والصنف شام ٥ القاسي لذات المنطقتين على التوالي. وضمن منطقة ω غليادين وجدت أعلى نسبة من الحزم المتباينة في الصنفين القاسيين المحليين حوراني ٢٧ وناب الجمل. وبين الأصناف الطرية كان الصنف المحلي قندهاري أحمر الأعلى بنسبة الحزم المتباينة، تلاه الصنف المحلي سويد، في حين كانت أقل نسبة موجودة ضمن الصنفين المحسنين شام ٥ وبحوث ٦.

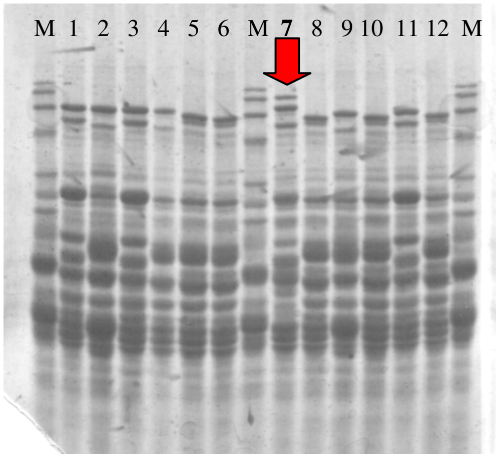
٢. نتائج التحليل بتقنية SDS-PAGE:

لقد نتج عن فصل الغلوتينين نوعان من تحت وحدات الغلوتينين Glutenin subunit الأولى: ذات الوزن الجزيئي المرتفع HMW والثانية: ذات الوزن الجزيئي المنخفض LMW. ويوضح الجدول (٩) التباينات الوراثية التي كشفت في مواقع *Glu-1* بالنسبة للأصناف المدروسة.

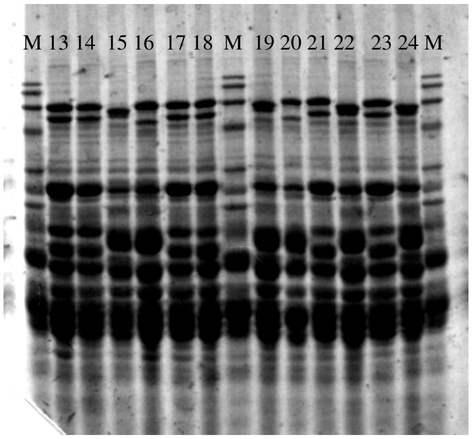
جدول(٩): التباينات الوراثية لتحت وحدات الغلوتينين مرتفعة الوزن الجزيئي في الأصناف المدروسة.

HMWGS **الأصناف**		**عدد الطرز المتغايرة**	***Glu-A***	***Glu-B***	***Glu-D***
القاسية	شام ٥	١	Null	١٨+١٧ ،٨+٧	
	حوراني ٢٧	١	Null	١٨+٧ ، ٨+٦	
	ناب الجمل	٢	*2 ,null	١٨+١٧ ،٨+٧	
الطرية	بحوث ٦	٠		١٨+١٧	١٢+٢
	قندهاري أحمر	٣	١ ، ٢*	١٨+١٧ ، ٨+٧	١٠+٥ ١٢+٢
	سويد	٠		٨+٧	١٢+٢

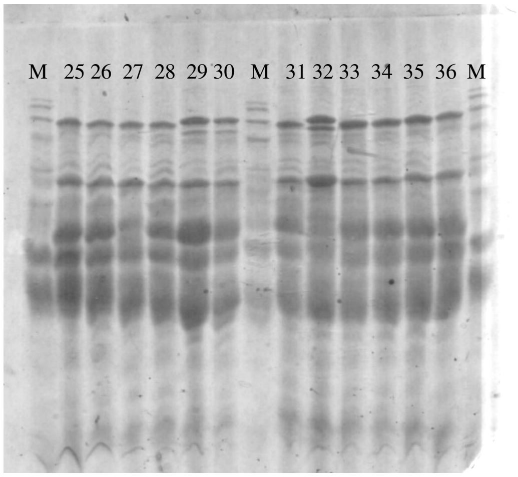
لقد سجلت في جميع الأصناف القاسية اختلافات في موقع *Glu-B*، بينما تميز الصنف المحلي ناب الجمل بوجود اختلاف وحيد في موقع *Glu-A* من خلال وجود طراز وحيد يحمل الأليل *2 (شكل ١٩). وفي الأصناف الطرية، تميز الصنف المحلي قندهاري أحمر بوجود اختلافات في مواقع *Glu-1* الوراثية الثلاثة *Glu-A1*، *Glu-B1*، *Glu-D1*، بينما لم تسجل أية اختلافات في كل من الصنف المحلي سويد والصنف المحسن بحوث٦.



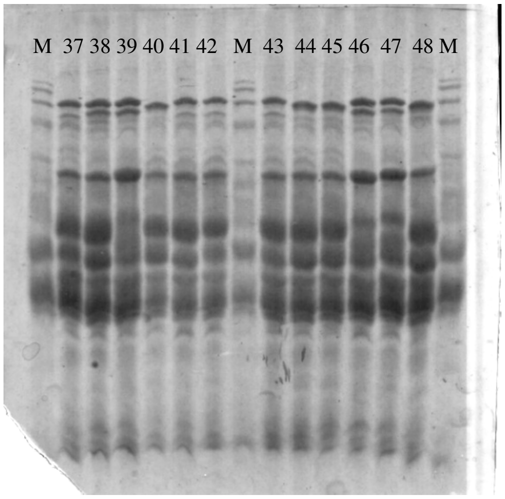
١-١٢



١٣-٢٤



٢٥ -٣٦



٣٧-٤٨

الشكل (١٩): نتائج رحلان ٤٨ طرازاً من الصنف القاسي ناب الجمل باستخدام تقنية SDS-PAGE ويظهر السهم الطراز ذو الاختلاف الوحيد في موقع *Glu-A*
وهذا الطراز يحمل الألليل *2.

دليل التغايرية (Het I) Heterogeneity Index:

لخصت بيانات تغايرات جميع المواقع المدروسة في الجدول(١٠) لمجموعتي الأصناف القاسية والطرية. أعطيت قيمة 0 عند عدم وجود أي تغاير في الموقع و1 عند وجود أي طراز وراثي مختلف عن الــ 48 طرازاً الداخلة بالتحاليل لكل الأصناف المدروسة وذلك بحسب Mir Ali (2000) الذي استنبط مؤشراً للتغاير أطلق عليه دليل التغايرية Heterogeneity Index (HetI). ويحسب هذا الدليل بأخذ وسطي قيم مواقع الغليادين والغلوتينين مجتمعة في كل صنف.

كانت قيم HetI في مجموعة الأصناف القاسية بالمتوسط أعلى بقليل من مجموعة الأصناف الطرية (٠,٥ و ٠,٤٣ على التوالي). وكانت هذه القيم بشكل عام أعلى في الأصناف المحلية القديمة منها في الأصناف المحسنة. كما كانت التغايرات ضمن مجموعة الغليادين ذات مدى واسع تراوح بين ٠ (α غليادين) و٠,٨٣ (γ و ω غليادين) وأكبر من تلك التي سجلت في مجموعة الغلوتينين والتي تراوح مداها بين ٠,٣٣ (موقعي *Glu-A1* و *Glu-D1*) و٠,٦٧ (موقع *Glu-B1*) (الجدول١١). كما نجد من الجدول ذاته أن أعلى قيمة لدليل التغايرية كانت ضمن الصنف الطري المحلي قندهاري أحمر، بينما سُجلت أقل قيمة ضمن الصنف الطري المحسن بحوث ٦ والصنف الطري المحلي سويد اللذان تميزا بتماثلية وراثية تامة في مواقع الغلوتينين الثلاثة *Glu-A1*، *Glu-B1*، *Glu-D1*. أما في الأقماح القاسية فقد تميز الصنف المحسن شام ٥ بأقل دليل تغايرية بوجود تغاير في موقع واحد من كل من الغلوتينين والغليادين، بينما تميز الصنف ناب الجمل بأعلى قيمة لدليل التغايرية باحتوائه على تغاير في موقعي الغلوتينين وفي كل من γ و ω غليادين.

جدول (١٠): بيانات تغايرات جميع المواقع المدروسة لكل الأصناف المدروسة **بحسب Mir Ali (2000)**.

الحزم الناتجة الأصناف		*HMW-GS*			*Gliadin groups*				دليل التغايرية *Het* I
		Glu-A1	*Glu-B1*	*Glu-D1*	α	β	γ	ω	
القاسية	حوراني ٢٧	٠	١		٠	٠	١	١	٠,٥٠
	شام ٥	٠	١		٠	٠	١	٠	٠,٣٣
	ناب الجمل	٠	١		٠	٠	١	١	٠,٥٠
متوسط		٠	١		٠	٠	١	٠,٦٦	٠,٤٤
الطرية	قندهاري أحمر	١	١	١	٠	١	٠	١	٠,٧١
	بحوث ٦	٠	٠	٠	٠	٠	١	١	٠,٣٣
	سويد	٠	٠	٠	٠	٠	١	١	٠,٣٣
متوسط		٠,٣٣	٠,٣٣	٠,٣٣	٠	٠,٣٣	٠,٦٦	١	٠,٤٢٥

المناقشة

أظهرت هذه الدراسة كفاءة طريقتي الرحلان الكهربائي A-PAGE و SDS-PAGE المطبقتين على بروتينات التخزين في حبوب القمح في كشف الاختلافات الوراثية ضمن الأصناف المحسنة والبلدية لكل من الأقماح القاسية والأقماح الطرية.

من المعروف أنه يمكن التمييز بشكل عام بين الأصناف القاسية والطرية بسهولة بطرق الرحلان الكهربائي، ويعزى ذلك في الغالب إلى غياب المجموعة الصبغية D في الأصناف القاسية، وبالتالي فإن الحزم المسؤولة عنه في طريقة A-PAGE ترحل قليلاً وغالباً ماتعزى الحزم ذات RM<20 إليه. كما أن نمط التوزيع مختلف (Sapirstein and Bushuk,1985). وهذا ما لوحظ في هذه الدراسة، إلا أن Mir Ali (1987) أشار في دراسة على الأقماح الرباعية البرية *T.dicoccoides* التي تعتبر أصل الأقماح القاسية الموجودة حالياً وتحمل المجموعتين الصبغيتين A و B ذاتهما، إلى وجود عدد كبير من الحزم ذات RM<20 في المنطقة ذاتها التي تحوي ω غليادين، ويبدو أن هذه الحزم اختفت أثناء عملية الاستزراع domestication.

أما بالنسبة لطريقة SDS-PAGE فتكشف هي الأخرى بين الأقماح القاسية والطرية بسهولة حيث أن تحت حزم الغلوتينين عالية الوزن الجزيئي الموجودة على المجموعة الصبغية D موصفة جيداً (Payne & Lawrence, 1983). كما أشار MirAli *et al* (1999b) ومن خلال مسح للطرز الوراثية من الأقماح القاسية المزروعة في سورية، إلى أن كل هذه الطرز احتوت الألليل null من الجينوم A. لقد أظهرت نتائج دراستنا أن الصنف ناب الجمل شكل استثناءً من هذه القاعدة حيث حمل الألليل ٢* من موقع *Glu-A1* (المجموعة الصبغية A). أما من حيث الفروق بتكرارية التغاير في موقع *Glu-B1* بين الأصناف القاسية والأصناف الطرية فقد امتازت جميع الأصناف القاسية بوجود تغاير في هذا الموقع بينما وجد صنف واحد طري (قندهاري أحمر) يحمل هذا التغاير.

لقد أظهرت هذه الدراسة وجود نزعة عامة ميزت الاختلافات في كل مجموعات الغليادين حيث كانت نسب هذه الاختلافات بالمتوسط من الأعلى وإلى الأدنى ω تلاها γ ثم β وأخيراً α غليادين (جدول ٨). لقد توافقت هذه النتائج مع نتائج (Mir Ali (2000 بأن ω غليادين الأعلى و α غليادين الأقل اختلافاً في مجموعتي الأصناف القاسية والطرية. لكن الدراسة الحالية اختلفت عن الدراسة المشار إليها في وجود النزعة العامة التي لم تلاحظ في الدراسة الأخيرة التي وجدت أن ω غليادين كانت بالمتوسط أكثر اختلافاً في الأصناف القاسية، تلاها γ ثم β بينما كانت β الأكثر اختلافاً في الأصناف الطرية تلتها γ ثم ω (Mir Ali, 2000) .

أظهرت النتائج أن وسطي التغايرات في الغليادين كان أعلى منه في الغلوتينين. ويمكن تفسير ذلك بكون الغليادينات معقدة أكثر من الناحية الوراثية سواءً من حيث عدد المورثات المسؤولة عنها، أو من حيث التعدد الألليلي الواسع (Metakovsky and Branlard, 1998) مما ينجم عن ترحيلها بهذه الطريقة عدد أكبر بكثير من الحزم مقارنة مع طريقة SDS-PAGE. وتجدر الإشارة إلى أن الأخيرة قد تكون مكملاً جيداً للأولى كون مواقع الغلوتينينات *Glu-1* مستقلة تماماً بتوريثها عن مواقع الغليادينات *Gli-1* حيث تقع الأولى على الذراع الطويل، بينما تقع الثانية على الذراع القصير من نفس المجموعة الصبغية الأولى، وكذلك عن مواقع *Gli-2* التي تقع على المجموعة الصبغية السادسة (Payne *et al*., 1984).

إن تطبيق رحلان البروتينات لكلا الغليادين والغلوتينين لهدفنا يعتبر أقل تكلفة وأسهل مقارنة مع المعلمات الجزيئية لـــ DNA (Shuaib *et al*., 2007)، علاوة على أنه يمكن اختيار الطراز المفضل بعينه من خلال إجراء تحاليل الرحلان الكهربائي على نصف حبة القمح غير المحتوية على الجنين وزراعة النصف الآخر للمتابعة بعمليات التحسين الوراثي الهامة جداً. وفي هذا السياق وتأكيداً لجهود التربية وعمليات التحسين الوراثي المستندة إلى الأساليب العلمية التي يقوم بها مربو النبات في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية بالتعاون مع الجهات الوطنية الأخرى، فقد أشارت نتائج هذه الدراسة إلى أن الصنفين المحسنين احتويا على نسبة تغايرات وراثية HetI أقل من الأصناف البلدية القديمة. إن متابعة عمليات التحسين الوراثي باستخدام هذه الطرائق ممكنة جداً لناحية

اختيار الحزم ذات العلاقة بالنوعية العالية للخبيز أو تلك المرتبطة بصفات نوعية أو شكلية أخرى ولعمليات تنقية الأصناف من جهة أخرى.

لقد كانت نتئج دراستنا مشابهة لنتائج Mir Ali (2000) في دراسته على أصناف أخرى من القمح من حيث وجود عدد قليل من الطرز المتغايرة، تمثلت بوجود حبتين غريبتين أو ثلاثة من أصل الـــ٥٢ واعتبرها طرزاً حيوية (Biotypes) من أصل الصنف كونها اختلفت في عدد قليل من الحزم، أو أنها انعزالات لم تكشف بالطرق المتبعة أثناء التنقية قبيل اعتماد الصنف. وعبر عن ذلك بالخلط الوراثي. لكن دراستنا الحالية لم تكشف عن أي صنف كان به خلط ميكانيكي على عكس دراسة Mir Ali (2000) والتي كشفت أن الصنف الطري شام 6 الحديث الاعتماد في حينه، حمل درجة كبيرة من الخلط الوراثي في جميع المواقع تقريباً حيث وجد فيه 37 حبة مختلفة، واقترح أن هذا الصنف قد اعتمد على عجل بمرحلة وجدت فيه انعزالات كبيرة، أو أن العينة المدروسة حصل فيها خلط ميكانيكي.

ويوصى بنتيجة التوصيف البيوكيميائي للأصناف المدروسة:

١. استخدام كلتا الطريقتن A-PAGE و SDS-PAGE لإعطاء صورة شاملة عن التغايرات ضمن الأصناف، ومعرفة كنه التغايرات أهي وراثية، أم نتيجة خلط ميكانيكي، حيث وجدت بعض الأصناف المتماثلة وراثياً للمواقع التي تظهرها إحدى الطريقتين ولكنها متغايرة وراثياً في المواقع التي تكشفها الطريقة الأخرى.

٢. اختيار الأصناف الطرية المحتوية على تحت الحزمتين الألليليتين ٥+١٠ لإدخالهما ضمن برامج التربية، كونهما تعتبران مؤشراً على العجينة الجيدة للخبز الإفرنجي(الصمن) واستبعاد الأصناف المحتوية على تحت الحزمتين الألليليتين ٢+١٢ واللتين تعتبران مؤشراُ على عجينة سيئة للخبز إلا أنها تصلح للبسكويت.

٣. اختيار الأصناف القاسية المحتوية على الحزمة غاما غليادين ٤٥ ً كونها مؤشراً قوياً لنوعية العجين الجيدة للمعكرونة، في حين أن الأصناف المحتوية على الحزمة غاما غليادين ٤٢ تعتبر مؤشراً لعجينة معكرونة سيئة ولكنها صالحة لصناعة البرغل.

الفصل الثاني

التوصيف المورفولوجي

المقدمة

لعبت المحاصيل الحقلية دوراً مهماً وإيجابيا في حياة مختلف الشعوب. وعلى رأس هذه المحاصيل يتربع محصول القمح، إذ يعتبر من أهم المحاصيل الغذائية في العالم، وهو المصدر الغذائي لما يقرب من 40% من سكان العالم حيث تستخدم حبوبه في صناعة الخبز وبعض الصناعات الأخرى (عن معلا وحربا، ٢٠٠٥).

تبلغ المساحة العالمية المزروعة بالقمح (القاسي والطري) أكثر من ٢٥٠ مليون هكتار أعطت أكثر من ٥٠٠ مليون طن. وشكلت زراعته حوالي ٢٢% من مساحة الأراضي الزراعية، وهي أكبر مساحة لمحصول حبوب مزروع في العالم (عن معلا وحربا، ٢٠٠٥).

يعود ٥٠% من الزيادة الإجمالية في الإنتاج في العالم خلال السنوات الخمسين السابقة إلى تطوير وتحسين وسائل الإنتاج من تسميد وري ومكافحة آفات. بينما يعود النصف الآخر للتحسين الوراثي للمحاصيلhttp://ucdavis.edu.outreach/abc/new_tools_abc.htm وبما أن الحاجة إلى هذا المحصول تزداد سنوياً، فإن ذلك يتطلب تحقيق التوازن مابين الإنتاجية الكلية والطلب على محورين الأول: يكمن في استخدام الأساليب العلمية المتطورة في الزراعة وخدمة المحصول في كافة مراحل النمو والتطور، والثاني: في استنباط أصناف عالية الإنتاج عبر برامج التربية المختلفة وزراعتها في المناطق البيئية المخصصة لها. ضمن هذا المنحى تعتبر عملية جمع وتوصيف وتصنيف الأصول الوراثية المختلفة من أولى الخطوات المتبعة لتحديد هوية الأصناف الموجودة ومن ثم إدخالها ضمن برامج التربية. إن الوصول إلى التراكيب الوراثية ذات الطاقة الإنتاجية العالية يتطلب الانطلاق من مصادر وراثية ملائمة لأهداف التربية. ولاستثمار هذه المصادر الوراثية في برامج

التربية لابد من تقييمها ومعرفة خصائصها الوراثية ومدى التباين الوراثي والمظهري فيها (Harlan 1970). إن عملية تقييم التنوع الوراثي للأصول الوراثية المختلفة تزيد من كفاءة عمليات التربية ضمن برامج تربية النبات (Barrett and Kidwell, 1998). هناك عدة طرق لتقييم التنوع الوراثي ومن ضمنها التقييم المورفولوجي، الذي يعتبر من الطرق الشائعة المستخدمة ضمن هذا المجال كونها من الطرق البسيطة التي تدرس الاختلافات الوراثية. وعلى الرغم من أن المواصفات المورفولوجية متأثرة بالبيئة(Smith, 1984)، وتتحكم بها المورثات ذات تأثير مختلف مثل حالات التفوق والأثر المتعدد للمورثات Pleiotropic and epistatic genes كما ذكر (Van Beuningen and Busch, (1997، إلا أن ذلك لم يمنع من استخدامها بشكل واسع في دراسات تقييم التنوع الوراثي وتحسين الأصناف. فقد استخدمت هذه الطريقة إما بشكل مستقل لتقييم الأصول الوراثية للقمح ;Zaharieva et al., 2003) (Karagöz et al., 2006; Naserian et al., 2007; Dos Santos et al., 2008 أو مترافقة مع مؤشرات أخرى كالبيوكيميائية والجزيئية ;Fufa et al. 2005; Pagnotta et al. 2005) (;Moghaddam et al. 2005 من منطلق أن الاستخدام الأمثل للأصول الوراثية يحتاج لمعرفة تفصيلية لها من خلال تحديد مواصفاتها الوراثية والخلوية والزراعية المظهرية.

أهداف البحث:

١. التوصيف المورفولوجي لأصناف من القمح السورية رباعية وسداسية من خلال دراسة أهم المواصفات المورفولوجية والإنتاجية.
٢. دراسة العلاقات الوراثية مابين المواصفات المدروسة باستخدام المواصفات المورفولوجية
٣. دراسة علاقة الارتباط بين الغلة وعناصرها وبيان مدى أسهام كل منها في تكوين الغلة.

المواد وطرائق البحث

١. المادة التجريبية:

تم في هذه الدراسة، التوصيف المورفولوجي لمجموعة من الأصناف والسلالات المحلية والمحسنة السورية الرباعية والسداسية، التي عرضت في الفصل الأول، وهي عبارة عن ٣٧ صنفاً رباعياً و١٢ صنفاً سداسياً.

٢. طرائق البحث

١,٢. تحضير الأرض للزراعة:

حضرت الأرض للزراعة وفق القواعد العلمية الموصى بها، وتمت الزراعة الحقلية خلال العام ٢٠٠٦ في محطة تلحدية التابعة لمركز البحوث العلمية الزراعية بحلب، وهي تقع ضمن منطقة الاستقرار الثانية. زُرعت الأصناف بحسب التسلسل الوارد في الجدول (٤) حيث زُرع ٣ خطوط من كل صنف بمعدل ١٠٠ حبة/خط. أما المسافة بين الخط والآخر فكانت ٢٥ سم. لم يتم إضافة أية نوع من الأسمدة أو المبيدات.

٢,٢. القراءات والقياسات المأخوذة:

سجلت القراءات الحقلية المتعلقة بمكونات الغلة، حيث أُخذ من كل صنف ١٥ مكرراً عشوائياً، وقيست الصفات التالية وهي: طول النبات، طول السنبلة، طول السفا، عدد الحبوب/السنبلة، وزن الحبوب/السنبلة، وزن ١٠٠٠ حبة، عدد السنيبلات الفارغة، عدد السنيبلات الكلية.

٣,٢. التحليل الإحصائي:

حُللت البيانات إحصائياً بالبرنامج الإحصائي GenStat Release 7.2. وقورن بين متوسطات مكونات الغلة باختبار أقل فرق معنوي $L.S.D_{0.05}$، كما حسب معامل الاختلاف Coefficient of Variation C.V% ومعامل الارتباط البسيط ومعامل الانحدار المتعدد.

درست علاقات التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة بحساب معامل المسافات الوراثية بينها بطريقة Euclidean. أُجري التحليل العنقودي باستخدام (UPGMA) طريقة المتوسط الحسابي للمجموعات الزوجية غير المزانة SHAN وذلك باستخدام برنامج التحليل الإحصائي NTSYS (Rohlf, 2002).

النتائج والمناقشة

المؤشرات الإنتاجية:

إن القدرة الإنتاجية للصنف هي من أهم خواصه. وهي بدورها تتأثر بعدد كبير من الصفات المورفولوجية التي تحدد الطاقة المثالية للصنف، والصفات الفيزيولوجية التي تلعب دوراً في تحديد إمكانية أن يعبر الصنف عن طاقته الكامنة بشكل فعلي ضمن الظروف البيئية التي ينمو ويتطور بها النبات. وبشكل عام، فإن الخصائص المورفولوجية والفيزيولوجية للطراز الوراثي، تتحدد طبقاً للظروف البيئية التي يزرع فيها الصنف. كما وأن صفة الغلة هي صفة مركبة تتألف من العناصر التالية: عدد النباتات الخصبة في وحدة المساحة، عدد السنابل الخصبة/النبات، عدد الحبوب/السنبلة، وزن ١٠٠٠ حبة (عن معلا وحربا، ٢٠٠٥).

أولاً- صفة ارتفاع النبات:

أوضحت النتائج المبينة في الجدول (١١) وجود فروق معنوية بين الأصناف المدروسة. ففي الأصناف القاسية وُجد أن أعلى قيمة لمتوسط طول النبات كانت ضمن الصنف المحلي قوقو 96.8 سم، والصنف حوراني نووي 94.2سم، وقد تفوق الصنف قوقو على كافة الأصناف المدروسة، في حين لم توجد فروق معنوية مع الصنف حوراني نووي. هذه النتيجة مشابهة لما وجده Karagöz and Zencirci (2005) عند تقييم مجموعة من أصناف القمح التركية (قاسية وطرية) حيث تراوحت أطوال النباتات المدروسة من 63- ١٢٢سم. أما في هذه الدراسة فإن أقل قيمة لهذه الصفة قد ظهرت ضمن الصنف المحسن بحوث ٥ وبلغت ٥٧,٢ سم. بالنسبة للأصناف الطرية نجد من الجدول (١٢)، أن أعلى قيمة لمتوسط ارتفاع النبات (٧٥,٩ سم) ميزت الصنف سويد، يليه الصنف فلورنس أورور (72.7سم). في حين كانت أقل قيمة موجودة ضمن الصنف

شام ٨ (٥٦,٥)سم. لم تلاحظ أية فروق معنوية بين الصنفين المتفوقين، بينما تفوق الصنف سويد على بقية الأصناف. من خلال النتائج الحالية نجد أنه من المنطقي ملاحظة تميز الأصناف المحسنة بطول سوق أقصر من الأصناف المحلية، حيث أن صفة قصر الساق هي من الصفات المطلوبة ضمن برامج تربية النبات.

جدول (١١): متوسط (Ave) طول النبات، قيم مكونات الغلة، ومعامل التباين (C.V%) لكل صفة وذلك ضمن الأصناف القاسية المدروسة.

تسلسل	الصنف	طول السنبلة/سم		طول السفا/سم		وزن الحبوب في السنبلة/غ		طول النبات/سم		عدد الحبوب في السنبلة		السنيبلات الفارغة/سنبلة		السنيبلات الكلية		وزن 1000 حبة/غ	
		ave	CV	Ave	CV	ave	CV	Ave	CV	ave	CV	ave	CV	ave	CV	ave	CV
١	حوراني عادي	6.2	7	11.6	9	1.7	23	89.4	7	37.1	22.2	1.7	26	24.1	10	45.5	15
2	حوراني نووي	6.5	15	12.5	22	2.0	33	94.2	7	41.0	24	1.7	34	24.0	11	47.0	11
3	حوراني أيوبية	4.9	13	10.5	15	1.9	23	81.3	7	41.3	23	2.3	31	23.6	5	47.0	11
4	حوراني A	5.9	12	17.4	11	2.4	23	83.4	26	48.2	22	2.3	31	23.5	8	50.1	5
5	حوراني B	5.7	6	14.2	11	1.6	24	81.3	8	32.3	20	2.0	0	23.7	9	49.1	13
6	حوراني C	5.7	6	14.2	11	2.7	16	60.5	5	47.5	12	2.0	0	24.0	8	50.2	9
7	حوراني٢٧	7.2	8	12.8	12	1.9	18	87.6	6	41.1	16	2.1	12	23.5	9	45.8	11
8	حوراني قصير	7.0	17	11.8	15	2.1	14	83.4	5	42.4	13	2.1	12	22.8	20	50.2	6
9	حماري عادي	6.5	6	11.0	13	2.1	24	89.8	8	41.0	21	2.1	12	24.5	6	50.4	8
10	حماري أحمر	6.6	6	12.3	8	1.8	17	88.3	8	40.1	13	2.2	19	24.9	10	44.3	10
11	سكلاوي	13.2	15	12.6	11	2.2	13	69.9	6	44.7	10	2.3	26	23.1	8	48.7	7
12	شيخاني	8.1	10	13.2	14	1.9	15	80.9	13	38.8	13	2.3	20	22.8	10	49.4	7
13	ناب الجمل	7.3	10	14.2	14	2.0	25	89.5	5	38.3	25	2.8	24	21.7	28	52.6	5
14	رزي	7.8	12	9.1	27	1.2	32	82.3	7	25.7	28	4.4	26	22.0	9	46.6	25
15	مصيرية A	7.2	11	12.1	27	1.1	25	84.1	10	24.1	23	2.2	19	19.8	27	45.1	13
16	بلدية حمراء	8.1	11	12.2	12	1.3	25	76.4	9	28.3	23	3.1	31	22.2	15	45.9	9
17	سوادي	7.8	10	12.6	10	1.6	18	77.1	8	35.1	17	2.5	21	22.8	7	46.5	6
18	بياضي	8.6	11	13.9	9	1.6	37	90.9	5	29.7	36	2.1	30	23.9	10	57.2	32
19	قوقو	8.5	6	12.7	12	2.0	26	96.8	3	42.2	22	2.4	56	23.0	4	47.8	9

20	فرعونيA	9.2	3	8.2	3	0.9	26	87.9	6	26.0	38	3.5	15	27.5	2	29.6	24
21	دوما ٢٦٨٢٣	7.9	15	13.2	13	2.3	30	68.5	5	51.5	24	2.0	0	20.9	12	44.5	9
22	بحوث ١١	7.0	14	11.1	17	2.2	27	60.1	9	46.3	21	2.3	20	19.7	16	46.2	8
23	جدارا ٢١	6.6	9	11.9	19	2.5	21	77.1	6	53.5	19	2.3	26	21.2	9	47.2	7
24	بحوث٧	6.7	9	12.9	14	2.0	17	68.7	6	47.1	12	2.3	20	21.9	14	43.4	23
25	دوما٢٠٦٠٢	7.3	8	13.3	10	1.9	15	61.8	6	40.1	14	2.6	24	21.6	7	49.7	22
26	بحوث ٩	6.8	9	14.2	13	2.5	15	68	6	48.3	22	2.2	19	21.1	12	50.6	7
27	أوتوروب	6.7	8	13.0	22	2.1	25	61.8	6	41.5	24	2.3	20	20.9	9	50.0	4
28	أم بيت ١	7.0	10	13.1	13	2.6	28	62.1	3	57.5	24	2.3	20	23.4	6	45.0	10
29	عين زين	7.2	7	13.6	12	2.0	23	85.4	7	44.3	20	2.5	21	23.0	19	45.7	7
30	دوما١	7.6	11	14.5	12	2.0	15	70.9	5	40.0	12	2.5	21	22.7	8	50.7	5
31	H-5948	7.2	11	13.4	16	2.4	31	68.0	5	51.0	23	2.0	0	22.5	8	47.2	14
32	شام ٧	7.1	9	16.3	17	2.2	32	65.7	5	49.3	29	2.3	21	22.3	12	44.6	6
33	أزغار١	7.5	9	14.5	14	2.6	15	72.1	5	51.7	12	2.3	20	22.5	8	51.2	11
34	شام ٣	13.2	19	7.1	21	3.6	24	61.7	6	48.0	15	2.4	21	21.7	10	46.9	20
35	شام ١	6.3	9	13.5	14	2.0	19	67.1	7	43.5	11	2.2	19	20.9	27	45.8	13
36	شام ٥	6.8	10	14.8	13	2.6	20	75.4	11	54.1	14	2.2	19	22.4	9	47.3	12
37	بحوث ٥	7.2	9	14.0	15	2.3	20	57.2	8	46.6	16	2.1	12	21.9	12	49.6	7
	المتوسط	7.402		12.8		2.001		76.400		42.130		2.315		22.650		47.610	
	LSD	0.635		1.349		0.337		5.083		6.174		0.374		2.006		4.453	

جدول (١٢): متوسط (Ave) طول النبات، وقيم مكونات الغلة، ومعامل التباين (C.V) لكل صفة وذلك ضمن الأصناف الطرية المدروسة.

تسلسل	الصنف	طول السنبلة/سم		طول السفا/سم		وزن الحبوب في السنبلة /مع		طول النبات/سم		عدد الحبوب في السنبلة		عدد السنيبلات الفارغة/سنبلة		عدد السنيبلات الكلية		وزن 1000حبة/غ	
		ave	CV	ave	CV	ave	CV	Ave	CV	ave	CV	ave	CV	ave	CV	ave	CV
1	بحوث٦	11.4	8	5.4	16	1.8	28	57.5	12	47.1	31	2.5	26	22.6	6	38.2	14
2	سلموني	12.6	9	7.9	34	1.7	33	67.6	16	39.2	27	2.0	0	23.7	8	42.5	15
3	بريجي	13.6	10	6.4	19	1.6	31	70.7	12	36.5	24	3.2	29	23.5	4	44.3	14
4	سويد	11.4	8	5.4	16	2.4	20	75.9	8	53.1	18	2.5	26	21.3	26	45.1	8
5	بلدية حمراء	10.6	11	6.6	15	1.5	26	68.0	12	30.3	25	3.7	28	20.9	7	48.5	9
6	دوما ٢	13.2	12	5.8	16	2.0	24	62.1	9	49.7	22	2.5	26	23.6	8	40.5	17
7	قندهاري أحمر	11.7	10	5.4	18	1.1	28	66.5	14	29.2	20	2.5	25	21.3	9	36.1	13
8	فلورنس أورور	12.8	8	0.1	0	1.7	34	72.7	29	36.5	31	2.1	31	20.7	14	46.8	6
9	بحوث ٤	12.7	10	6.8	32	2.3	29	58.1	12	59.5	30	2.5	31	24.3	8	39.4	11
10	شام ٤	9.7	7	5.1	17	2.1	24	61.3	15	54.9	18	2.0	0	23.3	7	37.6	11
11	شام ٨	11.4	9	5.6	19	2.4	14	56.5	13	68.1	14	2.3	31	25.0	4	35.7	8
12	قندهاري أبيض	11.4	10	6.9	18	1.0	35	69.4	13	31.5	29	3.1	34	21.9	8	31.2	22
	المتوسط	**11.9**		**5.6**		**1.8**		**65.5**		**44.6**		**2.5**		**22.7**		**40.6**	
	LSD	**0.783**		**0.925**		**0.337**		**6.072**		**7.522**		**0.502**		**1.566**		**3.604**	

ثانياً – طول السفا:

تتجلى أهمية هذه الصفة في أصناف القمح بشكل واضح في الزراعات المطرية والبيئات الجافة، حيث تشير أغلب الأبحاث إلى أن نسبة مساهمة السفا في الغلة الحبية تتراوح من ١٥-٢٠% (عن معلا وحربا ٢٠٠٧). ويرجع ذلك إلى دور السفا في عملية

التمثيل اليخضوري. تميز الصنف المحلي حوراني A بأعلى قيمة متوسط لهذه الصفة حيث بلغ ١٧,٤ سم، تلاه الصنف المحسن شام٧ بمعدل ١٦,٣سم ودون فروق معنوية بينهما، بينما تفوقا على باقي الأصناف القاسية. وسجلت أقل قيمة لهذه الصفة ٧,١سم في الصنف المحسن شام ٣. أما بالنسبة للأصناف الطرية فقد تميز الصنف سلموني بأعلى قيمة ٧,٩سم وتفوق معنوياً على باقي الأصناف المدروسة. جدير بالذكر أن أقل قيمة ٠,١ سم كانت ميزت الصنف فلورنس أورور والذي يتميز بعدم وجود سفا، وهذا مايفسر انخفاض قيمة CV ضمنه إلى الصفر. هذه النتيجة مشابهة لما وجده (٢٠٠٥) Karagöz and Zencirci حيث تراوح طول السفا المدروس من ٠- 13.5سم. علماً أن صفة عدم وجود السفا هي صفة مرغوبة لدى المزارعين في تركيا.

ثالثًا – طول السنبلة:

تعتبر صفة طول السنبلة من الصفات ذات التأثير المعنوي بالغلة Omar et al., (1997) كما أنها ذات معامل توريث مرتفع وفق ماذكره (Satyavart et al., 2002) مما يؤهلها لتكون مادة للانتخاب ضمن برامج التربية.

أوضحت النتائج أن متوسط طول السنابل للأصناف الطرية قد بلغ ١١,٩سم. ولوحظت أعلى قيمة في الأصناف الطرية بريجي، دوما٢ وبلغت ١٣سم. لم توجد فروق معنوية بين الصنفين بريجي ودوما٢، في حين تفوق الصنف بريجي على بقية الأصناف الطرية المدروسة. احتل الصنف شام٤ المرتبة الأخيرة بين الأصناف الطرية المدروسة حيث بلغ متوسط طول السنابل ٩,٧سم، هذه النتيجة مغايرة لما وجده Karagöz and Zencirci (2005) حيث تراوح طول السنابل من 3.7-11.1سم وبمتوسط 7.3سم.

بالنسبة للأصناف القاسية فقد كانت أعلى قيمة لمتوسط طول السنابل ١٣,٢سم في الصنفين المحلي سكلاوي والمحسن شام٣، واللذين تفوقا معنوياً على الأصناف المتبقية كافة.

رابعًا – عدد السنيبلات العقيمة بالسنبلة:

تتميز هذه الصفة بعلاقة ارتباط سلبية بينها وبين إنتاجية النبات، حيث يبين الجدول (١١) أن أقل قيمة للسنيبلات الفارغة سُجلت في الصنفين حوراني عادي وحوراني نووي (1.7) وذلك ضمن الأصناف القاسية. وقد تفوق هذان الصنفان على كافة الأصناف عدا

الأصناف حوراني B، وحوراني C، وفرعوني A و دوما ١. أما متوسط قيمة هذه الصفة فقد بلغ 2.315.

أما في الأصناف الطرية فقد تميزت هذه الصفة بأقل قيمة لها ضمن الصنفين فلورنس أورور وشام ٤(2.1 و 2) على الترتيب . وبلغ المتوسط العام لهذه الصفة 2.5.

خامساً – عدد السنيبلات الكلية بالسنبلة:

يبين الجدول (١١) أن الصنف فرعوني A ذو السنيبلات المتراكبة والمتفرعة تميز بأعلى متوسط للسنيبلات الكلية (27.5) وبتفوق معنوي على الأصناف القاسية المدروسة كافة. أما أقل قيمة متوسط لهذه الصفة فقد وُجدت ضمن الصنف المحسن بحوث١١ وبلغ ١٩,٧. في حين أن الصنف الطري المحسن شام ٨، (جدول١٢)، الذي حمل أعلى قيمة متوسط لهذه الصفة قد تفوق على ٥٨,٣% من الأصناف الطرية المدروسة فقط. ولم يتفوق على الأصناف الطرية البلدية بريجي وسلموني، والطرية المحسنة دوما ٢ وبحوث ٤.

سادساً – عدد الحبوب في السنبلة:

تعتبر هذه الصفة من الصفات المؤثرة ايجابياً في الغلة، كما أنها ذات معامل توريث مرتفع، (Satyavart et al., 2002)، لذا فهي مستخدمة كثيراً في عمليات الانتخاب لصفة زيادة الغلة.

وجدت أعلى قيمة لمتوسط عدد الحبوب في السنبلة في السلالة المبشرة أم بيت١ (٥٧,٥). في حين أن أقل قيمة كانت في الصنف البلدي مصيرية A (٢٤,١). وفي دراسة Karagöz and Zencirci (2005) بلغ متوسط هذه الصفة 30.93. تفوق الصنف أم بيت١ معنوياً على كل الأصناف القاسية المدروسة، عدا الأصناف المحسنة: دوما ٢٦٨٢٣ وأزغار١ وجدارا ٢١ وشام٥. ومن الجدول (١١) نلاحظ أن الأصناف التي حققت أعلى قيمة هي أصناف محسنة، مما يدل على أثر التربية في هذه الصفة الإنتاجية المهمة. ولوحظ المنحى ذاته في الأصناف الطرية المحسنة التي تفوقت معنوياً على الأصناف المحلية. ومن الطبيعي أن نجد أن أعلى قيمة لمتوسط لهذه الصفة قد سجلت في الصنف المحسن شام ٨ وبلغت ٦٨,١ متفوقاً على الأصناف الطرية المدروسة كافة.

سابعاً – وزن الحبوب في السنبلة:

تفوق الصنف القاسي المحسن شام ٣ الذي حقق أعلى قيمة متوسط لهذه الصفة (٣,٦غ) على الأصناف القاسية المدروسة كافة. وتميز الصنف البلدي فرعونيA بأدنى قيمة (٠,٩غ). أما بالنسبة للأصناف الطرية فقد حقق الصنف المحسن شام ٨ والصنف البلدي سويد نفس القيمة العظمى لمتوسط هذه الصفة وهي ٢,٤غ وتفوقا على بقية الأصناف الطرية المدروسة عدا الأصناف المحسنة شام ٤، وبحوث ٤، بينما تفوق الصنف بحوث ٤ على بقية الأصناف جدول (١٢)، ولم تلاحظ فروق معنوية بين الصنفين شام ٤ وبحوث ٦.

ثامناً – وزن ١٠٠٠ حبة:

تميز الصنف القاسي المحلي بياضي بأعلى قيمة لمتوسط وزن ١٠٠٠ حبة (٥٧,٢غ) متفوقاً على الأصناف القاسية المدروسة كافةً، بينما سجلت أدنى قيمة لمتوسط هذه الصفة (٢٩,٦غ) في الصنف فرعوني A. هذا المدى مشابه لما وجده Karagöz and Zencirci (2005) حيث تراوح وزن ١٠٠٠ حبة بين22.06– 49.72غ. أما بالنسبة للأصناف الطرية فقد تميز الصنف المحلي بلدية حمراء بأعلى قيمة (٤٨,٥غ) متفوقاً على كل الأصناف الطرية عدا الصنفين سويد وفلورنس أورور، الذين بدورهما لم يتفوقا على الصنف بريجي. كما وأن الصنف سويد لم يتفوق على الصنف سلموني، والذي بدوره لم يتفوق على الصنفين المحسنين دوما ٢ وبحوث٤ (الجدول ١٢).

معامل الاختلافCV%:

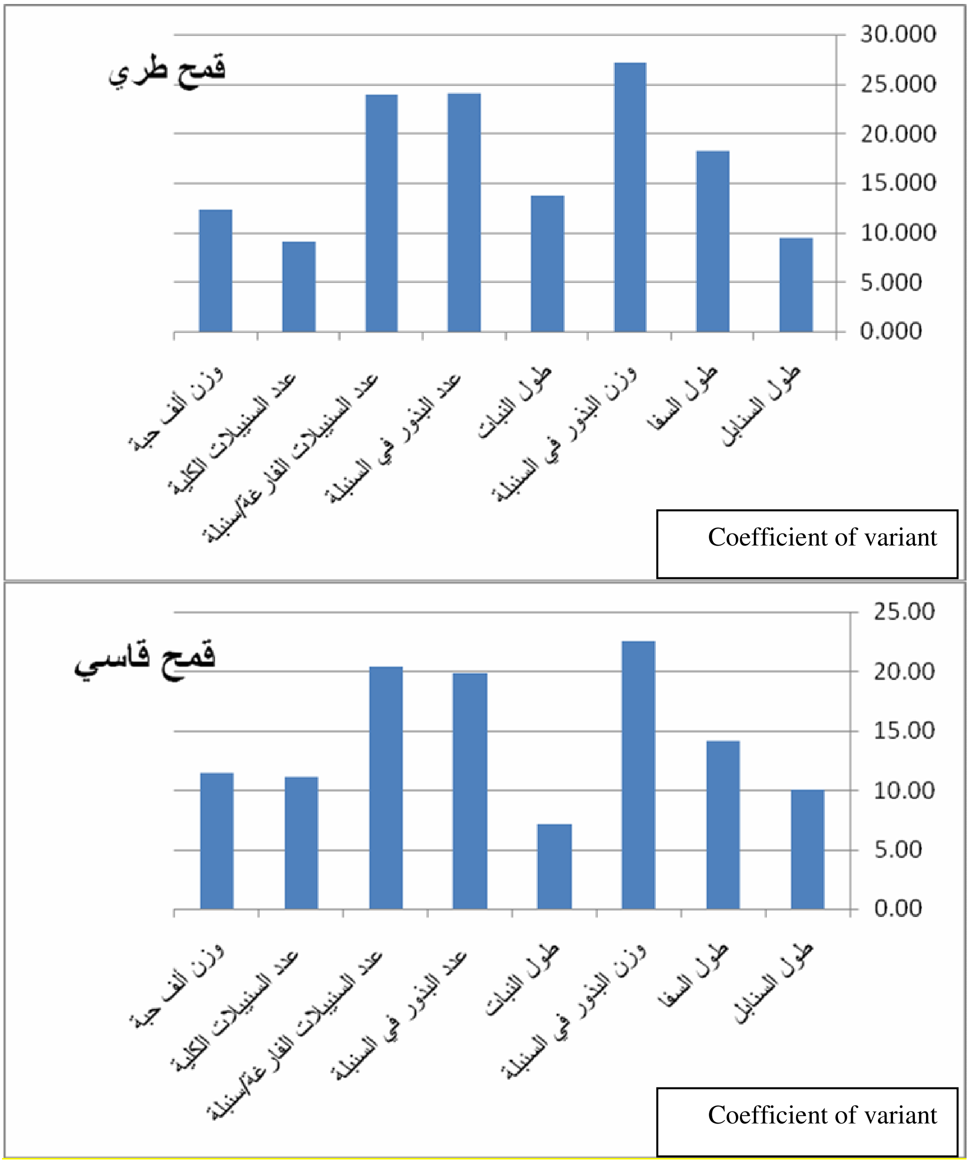
يبين الجدول (١١) أن القيم العظمى لمعامل الاختلاف ضمن الصفات المدروسة قد ميزت الأصناف المحلية دوناً عن الأصناف المحسنة، باستثناء صفة طول السنبلة حيث أن أعلى قيمة لــ CV (١٩%) وجدت في الصنف المحسن شام ٣. ويفسر ذلك بكونها صفة مرغوبة منتخبة وذلك لارتباطها ايجابياً بصفة عدد الحبوب ضمن الأقماح القاسية والطرية على حد سواء. أما بالنسبة لصفة طول السفا فقد سجلت أعلى قيمة في الصنفين المحليين مصيرية A ورزي، بينما كانت أعلى قيمة لــ CV بالنسبة لصفة وزن الحبوب في السنبلة في الصنف البلدي بياضي(٣٧%). أما بالنسبة لصفة طول النبات فقد كانت أعلى لــCV له ضمن سلالة حوراني A. وتميز الصنف البلدي فرعوني A بأعلى قيمة لــ CV(٣٨%) وذلك بالنسبة لعدد الحبوب في السنبلة. وسجلت أعلى قيمة لمعامل الاختلاف

عند دراسة صفة السنيبلات الفارغة (٥٦%) في الصنف قوقو، بينما أظهر الصنف ناب الجمل قيمة معامل اختلاف بلغت (٢٨%) بالنسبة لصفة عدد السنيبلات الكلية. وكان الصنف بياضي هو الأكثر تبايناً من بين بقية الأصناف عند دراسة صفة وزن ١٠٠٠ حبة، وتتوافق هذه النتيجة إلى حد ما مع نتائج Roy et al.,(2004) عند توصيف ٥٥ صنفاً من القمح القاسي باستخدام تقنيات مختلفة إضافة للتوصيف المورفولوجي، حيث وجد أن معامل الاختلاف كان مرتفعاً بالنسبة لصفات: وزن ١٠٠٠حبة، الغلة الحبية، الغلة البيولوجية، عدد الاشطاءات، ومعامل الحصاد، بينما كانت قيمته متوسطة لصفات طول النبات، طول السنبلة، عدد السنيبلات ضمن السنبلة وعدد الحبوب ضمن السنبلة. من الشكل (٢٠) نجد أن أعلى قيمة لمعامل الاختلاف كانت موجودة ضمن صفة وزن الحبوب في السنبلة سواءً في القمح القاسي أو الطري تليه في ذلك صفة عدد السنيبلات الفارغة في القمح القاسي وصفة عدد الحبوب في السنبلة في القمح الطري بينما سجلت أقل قيمة لمعامل الاختلاف لصفة طول النبات في القمح القاسي، ولصفة عدد السنيبلات الكلية في القمح الطري.

ويمكن ملاحظة النتيجة ذاتها عند التدقيق بالجدول (١٢) حيث أن الأصناف المحلية قد سجلت أعلى قيمة لمعامل الاختلاف بالنسبة لكل الصفات المدروسة عدا صفة طول السنبلة في الصنف دوما ٢. أما فيما تبقى من الصفات فقد سجل الصنف المحلي قندهاري أبيض أعلى قيم هذا المعامل وبلغت ٢٩،٣٥، ٣٤، ٢٢ % عند دراسة صفات وزن الحبوب في السنبلة، عدد الحبوب في السنبلة، عدد السنيبلات الفارغة ووزن ١٠٠٠ حبة على الترتيب. بينما تميز الصنف فلورنس أورور بأعلى قيم CV لصفتي ارتفاع النبات وعدد الحبوب في السنبلة (٢٩، ٣١%) على الترتيب. وهذه النتيجة تتوافق مع ماوجده Eshghi and Khalilzadeh (2006) حيث سجلت نسبة مرتفعة من الاختلاف ضمن صفة طول النبات تحت ظروف الزراعة البعلية، وفسر Akhtar et al., (2001) ذلك كنتيجة للاختلاف الوراثي ضمن الصنف.

إن ارتفاع نسبة التباين ضمن الأصناف المدروسة مألوف عند الأنواع ذاتية التلقيح بحسب ماذكر Hamrick and Godt (1989). أما ارتفاعه في الأصناف المحلية مقارنة بالأصناف المحسنة فهو نتيجة متوقعة ومنطقية، حيث أن هذه الأصناف هي عبارة عن

مجموعات وراثية مختلفة وليست صنفاً نقياً، أي أنها تحتوي على تباين كبير وذلك بحسب رأي (1972) Harlan and De Wet، مما يجعلها مادة خام لممارسة عمليات التربية والانتخاب ضمنها بينما تتميز الأصناف المحسنة الحديثة باستقرار نسبي في المواصفات الإنتاجية مقارنة بالمحلية، إلا أن قيم معامل الاختلاف فيها كانت مرتفعة لبعض الصفات.



شكل (٢٠): قيم متوسط معامل الاختلاف ضمن الصفات المدروسة في كل من القمح الطري والقاسي.

معامل الانحدار:

دُرست علاقة الانحدار المتعدد بين عناصر الغلة المختلفة. استخدمت في كل مرة صفة من الصفات المدروسة كتابع، والصفات الأخرى كمتحولات مستقلة وبشكل دوري. وحددت أهم الصفات المؤثرة والمعنوية، وبناءً على ذلك استُخرجت معادلة التنبؤ لهذه الصفات.

أولاً: القمح القاسي

درست ٨ متغيرات كعوامل تابعة للصفة المستقلة، والتي كانت متبدلة في كل مرة لتشمل كل الصفات. أوضحت النتائج وجود فروق معنوية لثلاث صفات هي عدد الحبوب في السنبلة ووزن ١٠٠٠حبة ووزن حبوب السنبلة الواحدة، بينما لم تلاحظ بين بقية الصفات أية فروق معنوية.

١. **عدد الحبوب/السنبلة:** يظهر الجدول (١٣) مقدار ارتباط مساهمة كل من الصفات الأخرى مع صفة عدد الحبوب. كانت الفروق معنوية لأربعة صفات، اثنتان منهما بقيم سلبية وهي السنيبلات العقيمة ووزن ١٠٠٠ حبة، في حين كانت الفروق معنوية وإيجابية ضمن صفتي طول السفا ووزن الحبوب في السنبلة. مع العلم أن هذه الصفات تساهم بنسبة 95.2% في الصفة المدروسة. وبناءً على ذلك أمكن كتابة معادلة التنبؤ لعدد الحبوب في السنبلة وعلاقتها مع الصفات الأخرى.

$$\mathbf{Y= 37.76 - 0.361\, X_1 + \text{٠,١١٥}\, X_2 - 0.75\, X_3 + 20.57\, X_4}$$

حيث:

Y= عدد الحبوب.

X_1 = السنيبلات الفارغة.

X_2 = طول السفا.

X_3 = وزن ١٠٠٠ حبة.

X_4= وزن الحبوب/سنبلة.

جدول (١٣): مقدار ارتباط مساهمة الصفات المدروسة مع صفة عدد الحبوب.

	estimate **التقييم**	**s.e.** **الانحراف المعياري**	**t(545)** **t:المحسوبة**	**t pr.** **t:الجدولية**
الثابت:عدد الحبوب/سنبلة	37.76	1.54	24.49	<.001
عدد السنيبلات العقيمة	0.361−	0.174	- 2.07	0.039
طول السفا	0.1147	0.0427	2.69	0.007
طول السنبلة	0.006	0.06	0.1	0.922
طول النبات	-0.0141	0.009	- 1.59	0.111
عدد السنيبلات الكلية	-0.0496	0.0358	- 1.39	0.166
وزن ١٠٠٠ حبة	-0.748	0.017	- 43.2	<.001
وزن الحبوب/سنبلة	20.571	0.214	96.31	<.001

٢. وزن ١٠٠٠ حبة: يبين الجدول (١٤) وجود تأثير معنوي لثلاثة صفات، في حين كان الارتباط سلبياً مع أربعة صفات أخرى هي عدد السنيبلات الفارغة، عدد الحبوب في السنبلة، طول النبات، وعدد السنيبلات الكلية.

الجدول (١٤): مقدار ارتباط ومساهمة الصفات المدروسة مع صفة وزن ١٠٠٠ حبة.

	estimate **التقييم**	**s.e.** **الانحراف المعياري**	**t(545)** **t:المحسوبة**	**t pr.** **t:الجدولية**
الثابت: وزن ١٠٠٠حبة	46.22	1.73	26.72	<.001
عدد السنيبلات الفارغة	-0.374	0.205	-1.82	0.069
طول السفا	0.1711	0.05	3.42	<.001

طول السنبلة	0.0035	0.0716	0.05	0.961
عدد الحبوب/سنبلة	-1.0351	0.024	-43.2	<.001
طول النبات	-0.0025	0.0105	-0.23	0.815
عدد السنيبلات الكلية	-0.0743	0.0420	-1.77	0.078
وزن الحبوب/سنبلة	22.55	0.453	49.82	<.001

وكان الارتباط ايجابياً مع صفتي طول السفا ووزن الحبوب في السنبلة، وسلبياً معنوياً مع صفة عدد الحبوب في السنبلة علماً بأن هذه الصفات تساهم بنسبة 82.7% في الصفة المدروسة. وبناءً على ذلك أمكن كتابة معادلة التنبؤ لوزن ١٠٠٠ حبة وعلاقتها مع الصفات الأخرى.

$$Y=46.22 + 0.17X_1 - 1.035X_2 + 22.55X_3$$

حيث :

Y= وزن ١٠٠٠ حبة
X_1= طول السفا
X_2= عدد الحبوب/السنبلة
X_3= وزن الحبوب

٣. وزن الحبوب/سنبلة: يظهر الجدول (١٥) وجود تأثير معنوي لثلاث صفات، في حين كان الإرتباط سلبياً مع صفة طول السنبلة ودون فروق معنوية.

الجدول (١٥): مقدار ارتباط ومساهمة الصفات المدروسة مع صفة وزن الحبوب/سنبلة.

	estimate التقييم	**s.e. الانحراف المعياري**	**t(545) t:المحسوبة**	**t pr. t:الجدولية**
الثابت: وزن حبوب/سنبلة	-1.6584	0.0781	-21.24	<.001
عدد السنيبلات العقيمة	0.00756	0.00826	0.92	0.36
طول السفا	-0.00408	000202	-2.02	0.044
طول السنبلة	-0.00037	0.00288	-0.13	0.899
عدد الحبوب/سنبلة	0.045915	0.000477	96.31	<.001
طول النبات	0.000033	0.000420	0.08	0.938
عدد السنيبلات الكلية	0.00199	0.00169	1.18	0.239

وزن ١٠٠٠ حبة	0.036361	0.000730	49.82	<.001

وكان الارتباط ايجابياً معنوياً مع صفتي عدد الحبوب في السنبلة ووزن ١٠٠٠ حبة، ومعنوياً سلبياً مع صفة طول السفا. علماً بأن هذه الصفات تساهم بنسبة 96.2% في الصفة المدروسة. وبناءً على ذلك تمت كتابة معادلة التنبؤ لوزن حبوب في السنبلة وعلاقتها مع الصفات الأخرى.

$$\mathbf{Y= - 1.6584 - 0.004\, X_1 + 0.046\, X_2 + 0.0363\, X_3}$$

حيث:

Y: وزن الحبوب/سنبلة
X_1: طول السفا
X_2: عدد الحبوب/سنبلة
X_3: وزن ١٠٠٠ حبة

ولم تذكر معادلة التنبؤ لباقي الصفات لعدم مساهمة الصفات المتغيرة فيها بنسبة عالية.

ثانياً: القمح الطري

درست٨ متغيرات كعوامل تابعة للصفة المستقلة، والتي كانت متبدلة في كل مرة لتشمل كل الصفات. وكانت النتائج مشابهة للنتائج المسجلة في القمح القاسي، حيث وُجدت فروق معنوية لثلاث صفات هي عدد الحبوب في السنبلة ووزن ١٠٠٠ حبة ووزن حبوب السنبلة الواحدة، بينما لم تتميز بقية الصفات بأية فروق معنوية.

١. **عدد الحبوب/السنبلة:** يظهر الجدول (١٦) يظهر مقدار ارتباط مساهمة كل من الصفات الأخرى مع صفة عدد الحبوب، وقد أوضحت النتائج وجود فروق معنوية لأربع صفات، اثنتان منهما إيجابيتان وهما عدد السنيبلات الكلية ووزن الحبوب في السنبلة، واثنتان سلبيتان وهما طول النبات ووزن ١٠٠٠ حبة. علماً أن هذه الصفات تساهم بنسبة 97.5% في الصفة المدروسة وبناءً على ذلك تمت كتابة معادلة التنبؤ لعدد الحبوب في السنبلة وعلاقتها مع الصفات الأخرى.

$$\mathbf{Y= 38.78- 0.0637\, X_1+ 0.194\, X_2 - 0.95\, X_3 + 25.11\, X_4}$$

حيث:

X_1: طول النبات
X_2: السنيبلات الكلية
X_3: وزن ١٠٠٠ حبة

X_4: وزن حبوب/ سنبلة

جدول (١٦): مقدار ارتباط مساهمة الصفات المدروسة مع صفة عدد الحبوب/سنبلة.

	estimate التقييم	**s.e.** الانحراف المعياري	**t(545)** t:المحسوبة	**t pr.** t:الجدولية
الثابت:عدد الحبوب	38.78	2.7	14.36	<.001
السنيبلات العقيمة	0.026	0.243	0.11	0.914
طول السفا	-0.1416	0.0895	-1.58	0.116
طول السنبلة	-0.032	0.125	-0.25	0.802
طول النبات	-0.0637	0.0203	-3.14	0.002
السنيبلات الكلية	0.194	0.0812	2.39	0.018
وزن ١٠٠٠ حبة	-0.9504	0.0329	-28.85	<.001
وزن حبوب/سنبلة	25.114	0.338	74.26	<.001

٢. وزن ١٠٠٠ حبة: يظهر الجدول (١٧) مقدار ارتباط ومساهمة كل من الصفات الأخرى مع صفة عدد الحبوب. حيث وجد تأثير معنوي لثلاثة صفات اثنتان منهما سلبية وهما طول السفا وعدد الحبوب في السنبلة ووزن الحبوب في السنبلة. علماً بأن هذه الصفات تساهم بنسبة 87.8% في الصفة المدروسة. وبناءً على ذلك تمت كتابة معادلة التنبؤ لوزن ١٠٠٠ حبة وعلاقتها مع الصفات الأخرى.

$$\mathbf{Y= 37 - -0.19\ X_1 -0.8719\ X_2 + 22.672\ X_3}$$

حيث:

X_1: طول السفا

X_2: عدد حبوب/ سنبلة

X_3: وزن حبوب/ سنبلة

جدول (١٧): مقدار ارتباط ومساهمة الصفات المدروسة مع صفة وزن ١٠٠٠ حبة.

	estimate التقييم	s.e. الانحراف المعياري	t(545) t:المحسوبة	t pr. t:الجدولية
الثابت: وزن ١٠٠٠ حبة	٣٧	2.6	14.24	<.001
سنيبلات عقيمة	0.237	0.232	1.02	0.309
طول السفا	-0.19	0.0851	-2.23	0.027
طول السنبلة	0.099	0.12	0.82	0.411
عدد الحبوب/سنبلة	-0.8719	0.0302	-28.85	<.001
طول النبات	-0.021	0.199	-1.06	0.293
سنيبلات كلية	0.099	0.0787	1.27	0.206
وزن الحبوب/سنبلة	22.672	0.693	32.71	<.001

٣. **وزن حبوب/سنبلة**: يظهر الجدول (١٨) مقدار ارتباط ومساهمة كل من الصفات الأخرى مع صفة وزن الحبوب.

جدول (١٨): مقدار ارتباط ومساهمة الصفات المدروسة مع صفة وزن الحبوب/سنبلة.

	estimate التقييم	s.e. الانحراف المعياري	t(545) t:المحسوبة	t pr. t:الجدولية
الثابت: وزن حبوب	٤٩٢-1.	0.108	-13.79	<.001
سنيبلات عقيمة	−0.00416	0.00952	−0.44	0.662
طول السفا	-0.00565	0.00351	1.61	0.109
طول السنبلة	-0.00006	0.00491	-0.01	0.99
عدد الحبوب/سنبلة	0.038614	0.000520	74.26	<.001
طول النبات	0.002054	0.000804	2.56	0.011
سنيبلات كلية	−0.00548	0.00321	-1.71	0.09
وزن ١٠٠٠ حبة	0.03800	0.00116	32.71	<.001

ووجدت فروق معنوية إيجابية لثلاثة صفات وهي عدد الحبوب في السنبلة، طول النبات، وزن ١٠٠٠حبة. علماً بأن هذه الصفات تساهم بنسبة 97.7% في الصفة المدروسة. وبناءً على ذلك كتبت معادلة التنبؤ لوزن حبوب في السنبلة وعلاقتها مع الصفات الأخرى.

$$\mathbf{Y= -1.٤٩٢ + 0.038614\, X_1 + 0.002054\, X_2 + 0.038\, X_3}$$

حيث:

X_1: عدد الحبوب/ سنبلة

X_2: طول النبات

X3: وزن ١٠٠٠ حبة

بالنسبة للصفات الثابتة الباقية لم تسهم الصفات المتغيرة فيها بشكل معنوي لذا لم يتم ذكر معادلة التنبؤ لها.

- **معامل الارتباط البسيط.:**

تفسر علاقات الارتباط بين الصفات المختلفة بوجود مورثات مرتبطة (Linked genes) إضافة للتعبير المختلف لمختلف المورثات، وترجمة تأثيرها من خلال طرز مورفولوجية معينة. إن العوامل البيئية تلعب دوراً كبيراً في علاقات الارتباط هذه حيث أنها تؤدي أحيانا إلى إظهار صفة معينة بأشكال مختلفة بحسب تفاعل هذه المورثات مع الظروف البيئية المختلفة. إن العلاقة المتبادلة مابين االنمط الوراثي للنبات و البيئة هي المسبب لظهور علاقات الارتباط المختلفة بين مختلف الصفات المورفولوجية. ومن خلال هذه الدراسات ظهرت قيم مختلفة من معامل الارتباط بين الصفات المختلفة سلبية أو ايجابية بحسب الجداول (١٩-أ، ١٩–ب).

أولا: القمح الطري

جدول (١٩-أ): علاقات الارتباط للصفات المدروسة ضمن أصناف القمح الطري.

	طول السنبلة	طول السفا	وزن الحبوب /سنبلة	طول النبات	عدد الحبوب/سنبلة	سنيبلات فارغة	سنيبلات كلية	وزن ١٠٠٠حبة
طول السنبلة	1							
طول السفا	.034	1						
وزن الحبوب/سنبلة	-.017	.008	1					
طول النبات	.071	-.137	-.149*	1				.
عدد الحبوب/سنبلة	-.086	.069	.899**	-.326**	1			
سنيبلات فارغة	.013	.221**	-.135	.159*	-.204**	1		
سنيبلات كلية	.101	.252**	.255**	-.192**	.347**	-.117	1	
وزن ١٠٠٠حبة	.161*	-.166*	.317**	.318**	-.102	.132	-.134	1

** الارتباط معنوي عند مستوى معنوية $P< 0.01$ * الارتباط معنوي عند مستوى معنوية $P<0.05$

من الجدول السابق نلاحظ وجود علاقات ارتباط معنوية ايجابية وسلبية بين بعض الصفات وسنذكر الصفات المتمتعة بالمعنوية فقط وهي:

كان الارتباط معنوياً إيجابياً بين:

- ❖ وزن ١٠٠٠ حبة مع طول السنبلة ومع وزن الحبوب في السنبلة ومع طول النبات.
- ❖ سنيبلات كلية مع طول السفا ومع وزن وعدد الحبوب في السنبلة.
- ❖ سنيبلات فارغة مع طول السفا ومع طول النبات.
- ❖ عدد الحبوب في السنبلة مع وزن الحبوب في السنبلة.

أما الارتباط المعنوي السلبي فقد كان موجوداً بين:

- ❖ وزن ١٠٠٠ حبة مع طول السفا.
- ❖ سنيبلات كلية مع طول النبات.

- ❖ سنيبلات فارغة مع عدد الحبوب في السنبلة.
- ❖ عدد الحبوب في السنبلة مع طول النبات.
- ❖ طول النبات مع وزن الحبوب في السنبلة.

ثانياً: القمح القاسي

جدول (١٩-ب): علاقات الارتباط للصفات المدروسة ضمن أصناف القمح القاسي.

	طول السنبلة	طول السفا	وزن الحبوب /سنبلة	طول النبات	عدد الحبوب/سنبلة	سنيبلات فارغة	سنيبلات كلية	وزن ١٠٠٠ حبة
طول السنبلة	1							
طول السفا	-202**	1						
وزن الحبوب /سنبلة	-.053	.218**	1					
طول النبات	-.095*	-.071	-.266**	1				
عدد الحبوب/سنبلة	-.040	.182**	.888**	-.290**	1			
سنيبلات فارغة	.157**	-.161**	-.241**	.007	-.228**	1		
سنيبلات كلية	.013	-.014	-.106*	.207**	-.096*	-.008	1	
وزن ١٠٠٠حبة	-.056	.184**	.475**	-.044	.069	-.130**	-.075	1

** الارتباط معنوي عند مستوى معنوية $P< 0.01$ * الارتباط معنوي عند مستوى معنوية $P< 0.05$

كان الارتباط معنوياً وإيجابياً بين:

- ❖ وزن ١٠٠٠ حبة مع طول السفا ووزن الحبوب في السنبلة.
- ❖ سنيبلات كلية وطول النبات.
- ❖ سنيبلات فارغة وطول السنبلة.
- ❖ عدد حبوب في السنبلة مع طول السفا ووزن الحبوب في السنبلة.

ومعنوياً سلبياً بين:

- ❖ وزن ١٠٠٠ حبة مع السنيبلات الفارغة.
- ❖ سنيبلات كلية مع وزن وعدد الحبوب في السنبلة.
- ❖ سنيبلات فارغة مع طول السفا ومع وزن وعدد الحبوب في السنبلة.

- ❖ عدد الحبوب في السنبلة مع طول النبات.
- ❖ طول النبات مع طول السنبلة ومع وزن الحبوب في السنبلة.
- ❖ طول السفا مع طول السنبلة.

من النتائج السابقة نجد أن أعلى قيمة لمعامل الارتباط (0.88, 0.89) كانت بين صفتي وزن وعدد الحبوب، ولكلا نوعي القمح القاسي والطري. ويعود ذلك لأن درجة التوريث لكلتيهما مرتفعة نسبياً وتقدر بحوالي ٨٠ و ٣٥% على التوالي(عن معلا وحربا، ٢٠٠٥).

أما بالنسبة للصفات الأخرى فقد كان هناك توافق في علاقات الارتباط المعنوي وغير المعنوي بين القمح القاسي والطري في بعض الصفات، وعدم توافق في صفات أخرى، كالارتباط المعنوي الإيجابي بين وزن ١٠٠٠ حبة ووزن الحبوب في السنبلة في القمح الطري والقاسي على حد سواء. ولوحظ التوافق ذاته بالنسبة لعلاقة الارتباط السلبية بين صفتي عدد الحبوب وطول النبات من جهة، وطول النبات ووزن الحبوب من جهة أخرى وللقمح القاسي والطري، وكلتاهما مكونين هامين من مكونات الغلة(معلا وحربا ٢٠٠٤) وهذا متوافق مع ماوجده Khan et al., (2005) الذي فسر هذه الظاهرة بأن الزيادة في طول النبات تؤدي لتوجيه كمية أكبر من مخصصات النبات من المادة لتتراكم في الساق مما يؤثر على الغلة سلباً، ووجد النتيجة نفسها Chowdhry et al.,(1986).

كانت هناك بعض الفروق بالنسبة لبعض الصفات، فمثلاُ كانت علاقة الارتباط بين طول النبات ووزن ١٠٠٠ حبة ايجابية معنوية في القمح الطري وغير معنوية في القمح القاسي، وهي نتيجة موافقة لما وجده Chowdhr et al., (2000) ومخالفة لما وجده Shahid et al., (2002);Tamman et al., (2000) حيث كانت علاقة الارتباط سلبية بين هاتين الصفتين. ولوحظ أيضاً عدم وجود علاقة ارتباط معنوية بين عدد السنيبلات الكلية ووزن ١٠٠٠ حبة، في حين كانت سلبية وفق نتائج كل من الباحثين Khan et al., (2005); Singh and Diwived, (2002). أما بالنسبة لطول السنبلة فهو مرتبط معنوياً وإيجابياً مع وزن ١٠٠٠ حبة وبالتوافق مع Saleem et al., (2006) من جهة، والاختلاف مع Kashif and Khaliq (2006). من جهة أخرى لم يلاحظ وجود ارتباط معنوي بين صفتي طول السنبلة وعدد الحبوب، في حين كانت هذه العلاقة ايجابية ضعيفة ضمن

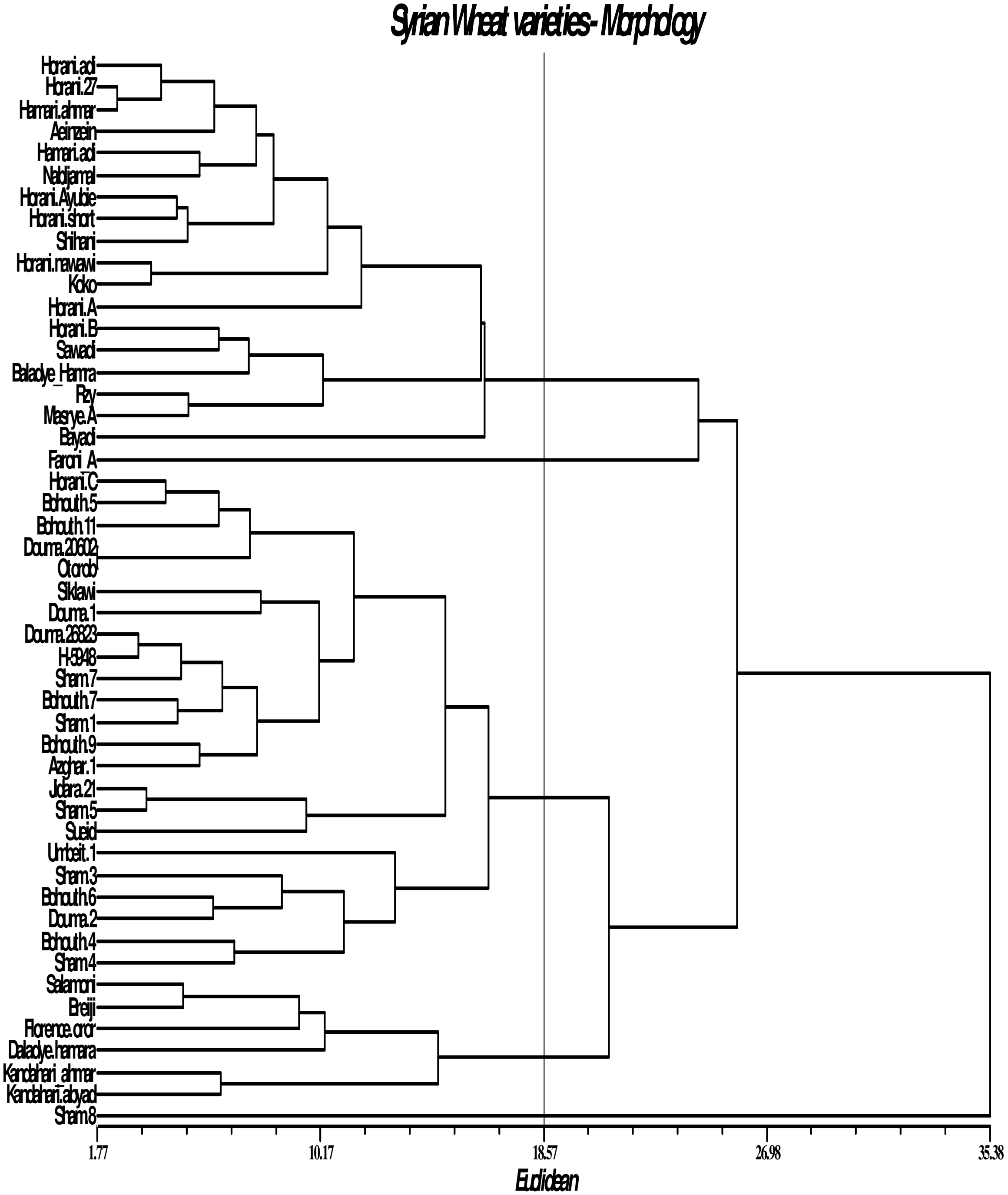
الزراعة المروية كما ذكر Naserian et al., (2007)، وهذا ما يتوافق مع نتائجنا بالنسبة للقمح القاسي، بينما كانت العلاقة سلبية بالنسبة للطري بين هاتين الصفتين.

معامل التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة:

بلغ متوسط معامل المسافات الوراثية بين الأصناف المدروسة 19.4 بحسب طريقة Euclidean. كانت أعلى قيمة للبعد الوراثي 56.56 بين الصنف المحسن الطري شام ٨ والصنف القاسي المحلي بياضي، بينما كانت أقل قيمة بين الصنف المحلي القاسي ناب الجمل والصنف المحسن عين زين وبلغت ١,١٣. أما بالنسبة للأصناف القاسية فكان الصنفان المحسن أم بيت والمحلي فرعوني الأكثر تباعداً، وبلغت المسافة الوراثية بينهما 44.1. أما الصنفين الأقل بعداً وراثياً فهما المحلي ناب الجمل والمحسن عين زين وبلغت المسافة الوراثية بينهما 1.13. وعند الانتقال للأصناف الطرية نجد أن أطول مسافة وراثية وجدت بين الصنف المحسن شام٨ والصنف المحلي سويد وبلغت 41.78. أما أقل مسافة فقد وُجدت بين الصنفين المحليين بريجي وسلموني وبلغت 4.98. هذا المدى من قيم معامل المسافات الوراثية بين الأصناف المدروسة أكبر مما وجده Roy et al., (2004) حيث تراوحت المسافات الوراثية بين أصناف القمح في دراسته بين 1.92 =–10.76.

مخطط التحليل العنقودي:

يبين الشكل (٢١) أن الأصناف المدروسة قد أُدرجت ضمن ٣ مجموعات رئيسية شملت كل واحدة منها(١٩،٢٩،١) صنفاً على الترتيب:



شكل (٢١): مخطط التحليل العنقودي بناءً على معامل التشابه الوراثي بين الأصناف الرباعية والسداسية المدروسة (٤٩ صنفاً).

المجموعة الأولى: تميزت جميعها بأنها أصناف محلية، وهي حوراني(عادي،٢٧، أيوبية قصير، نووي، A، B) حماري (أحمر، عادي)، ناب الجمل، شيحاني، قوقو، سوادي، بلدية حمرا، رزي، مصريةA، بياضي، فرعوني A. إضافة إلى صنف محسن وحيد وهو الصنف عين زين.

المجموعة الثانية: وضمت ٣ تحت مجموعات:

- تحت المجموعة الأولى: وكانت غالبية أفرادها أصنافاً قاسية محسنة (بحوث٥،بحوث١١، دوما٢٠٦٠٢، أوتوروب، دوما١، دوما ٢٦٨٢٣، H-5948، شام٧، بحوث٧، شام١، بحوث٩، أزغار١، جدار٢١، شام٥. إضافة للصنفين المحليين حورانيC والذي كان أقرب مايكون للصنف بحوث٦، وسكلاوي الذي كان أقرب مايكون للصنف المحسن دوما١. جدير بالذكر أن هذه المجموعة قد ضمت الصنف المحلي الطري سويد.

- تحت المجموعة الثانية: وضمت الأصناف الطرية المحسنة بحوث ٤، بحوث٦، دوما٢ شام٤، إضافة لصنفين قاسيين محسنين وهما أم بيت١ وشام٣.

- تحت المجموعة الثالثة: وضمت الأصناف الطرية المحلية الباقية وهي سلموني، بريجي، فلورنس أورو، بلدية حمراء، قندهاري أحمر، قندهاري أبيض.

المجموعة الثالثة: وضمت صنفاً وحيداً وهو الصنف الطري المحسن شام٨.

نلاحظ من المجموعات وتحت المجموعات المتشكلة أن هناك توافقاً مابين المجموعات المتشكلة والتركيب الوراثي لها، مع وجود بعض الاستثناءات الطفيفة، فمثلاً بالنسبة للمجموعة الأولى كانت ٩٤% من أفرادها أصنافاً قاسية محلية، وهذا طبيعي كونها تمتاز بصفات مورفولوجية متشابهة. وكان الصنف فرعوني هو الأكثر تطرفاً ضمن هذه المجموعة وذلك لتميزه بمواصفات سنبلة مختلفة عن الأشكال الشائعة للسنابل حيث تمتاز بوجود تفرعات ضمنها تؤدي لزيادة عدد السنيبلات وبالتالي عدد الحبوب الناتجة عنها. أما بالنسبة لتوضع الصنف الطري سويد ضمن تحت المجموعة التي تضم الأصناف القاسية المحسنة، فقد كان أقرب مايكون للصنفين القاسيين المحسنين جدار٢١ وشام ٥. وعند العودة إلى البيانات الأصلية نجد أن هناك تشابهاً كبيراً في بعض الصفات

المورفولوجية سببت هذا النوع من التشابه بين هذه الأصناف الثلاث (سويد، جدارا٢١، شام٥) هذه الصفات هي عدد السنيبلات الكلية، وزن ١٠٠٠حبة، عدد ووزن الحبوب في السنبلة، طول النبات.

كما يتضح أيضاً من المخطط تجمع سلالات الحوراني ضمن مجموعة واحدة عدا حوراني C، ويفسر ذلك بأن هذه الأصناف قد انحدرت من الأب الأصلي حوراني الذي يعتبر سلالة محلية Landrace طُبق عليها الانتخاب الفردي ضمن برامج الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية وذلك ضمن بيئات مختلفة (معلا، حلواني، ١٩٨٧).

أما بالنسبة لتواجد أصناف محلية وأصناف محسنة ضمن نفس المجموعة، فربما يعود ذلك لوجود قرابة وراثية مابين بعضها، ولكون الأصناف المحسنة منحدرة من السلالات المحلية من خلال استخدام هذه السلالات كآباء ضمن برامج التربية كأصناف متحملة ومتأقلمة.

وبالنسبة للمجموعات التي تحتوي أصنافاً محسنة فيعود ذلك لكون هذه الأصناف قد خضعت للانتخاب تحت شروط واحدة وضمن برامج تربية ذات أهداف واحدة، كما وأنها متأقلمة مع البيئات الجافة، مما يخلق هذه النوع من التشابه فيما بينها إضافة للتشابه في المواصفات الشكلية والإنتاجية.

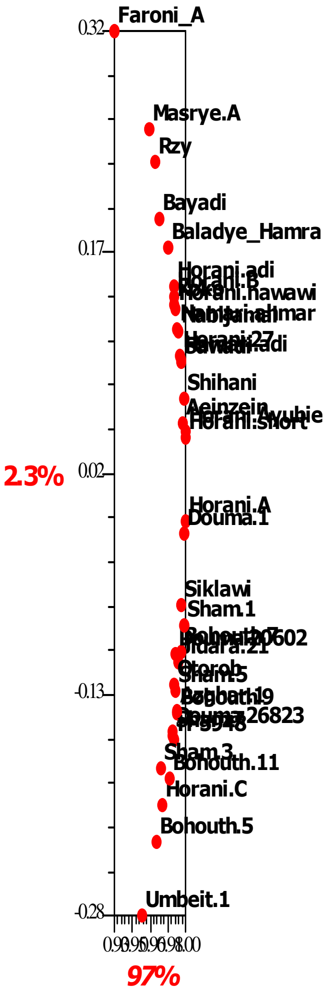
على الرغم من أن الأصناف المحسنة تظهر درجة عالية من التجانس المظهري وفق ماذكره Frankel and Soulé, (1981) إلا أنها عكست في هذه الدراسة نسبة جيدة من التنوع الوراثي حيث كان لكل طراز بيانات خاصة به. تتفق هذه النتيجة مع ما لاحظه Soleimani et al. (2002) حيث استطاع الكشف عن مستوى مرتفع من التنوع الوراثي بين ١٣ صنفاً محسناً على الرغم من عمليات الانتخاب المتكررة المتبعة ضمن برامج التربية.

أما الصنف المحسن الطري شام ٨ فيعود سبب توضعه ضمن مجموعة وحيدة لارتفاع متوسط عدد الحبوب للسنبلة فيه مقارنة ببقية الأصناف الطرية والقاسية حيث بلغ ٦٨,١ متفوقاً على الأصناف الطرية المدروسة كافة.

تحليل Principal Component Analysis (PCA)

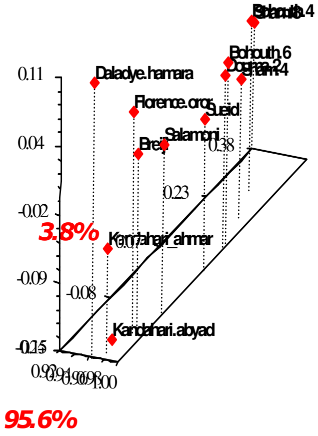
لقد استخدمت لبيانات المجمعة ذاتها لإجراء اختبار (PCA) وذلك لدراسة نوعية العلاقة بين الأصناف المدروسة.

ومن الشكل(٢٢) نجد أن مكونات اختبار PCA قد حُسبت لتشكل 99.3% من التباينات الكلية بالنسبة للقمح القاسي حيث توزعت بنسبة 97 % على المحور الأول و 2.3% على المحور الثاني.



الشكل(٢٢): نتائج اختبار PCA لأصناف القمح القاسي.

أما بالنسبة للقمح الطري (الشكل٢٣) فقد شكلت مكونات PCA ‏99.4% من التباينات الكلية. وكان 95.6% من هذه الاختلافات على المحور الأول، و 3.8% على المحور الثاني. وعند مقارنة المجموعات المتشكلة عن طريق إجراء هذا التحليل بمثيلاتها المتشكلة عن طريق التحليل العنقودي باستخدام معامل (UPGMA) طريقة المتوسط الحسابي للمجموعات الزوجية غير المزانة SHAN نجد تشابهاً كبيرا في المجموعات المتشكلة بكلتا الطريقتين.



الشكل(٢٣): نتائج اختبار PCA لأصناف القمح الطري.

في نهاية هذا البحث نجد أن توصيف هذه المجموعة من أصناف القمح الطرية والقاسية قد عكس نسبة عالية من التنوع ضمنها. وفي الوقت ذاته، لوحظ ارتفاع نسبة التباين الوراثي بين الأصناف المحلية مقارنة بالأصناف المحسنة وذلك للقمح القاسي والطري على حد سواء. وعند دراسة معامل الانحدار بين الصفات المدروسة لوحظ وجود فروق معنوية لثلاث صفات هي عدد الحبوب في السنبلة ووزن ١٠٠٠ حبة ووزن حبوب السنبلة الواحدة ضمن القمح الطري والقاسي، بينما لم تشكل بقية الصفات أية فروق معنوية. وأظهرت دراسة معامل الارتباط البسيط بين الصفات المدروسة عدم وجود علاقات ارتباط قوية بين صفتين اثنتين وهما وزن الحبوب وعدد الحبوب في السنبلة سواء في القمح الطري أو القاسي، بينما بالنسبة لباقي الصفات ظهرت علاقات معنوية ضعيفة ايجابية وسلبية. وعند حساب معامل المسافات الوراثية بين الأصناف القاسية المدروسة كانت أعلى قيمة بين الصنف المحسن أم بيت والصنف المحلي فرعوني A وبلغت 44.1. أما أقل قيمة فكانت بين الصنفين المحلي ناب الجمل والمحسن عين زين وبلغت 1.13. أما بالنسبة للأصناف الطرية فقد كانت أبعد مسافة وراثية بين الصنف البلدي سويد والصنف المحسن شام٨، أما أقصر مسافة وراثية فقد كانت 4.98 بين الصنفين المحليين بريجي وسلموني.

وعند مقارنة المجموعات المتشكلة عن اختبار PCA ومثيلتها الناتجة عن تحليل UPGMA لوحظ وجود توافق في المجموعات المتشكلة.

في النهاية نستنتج أن المادة المدروسة تحمل مقداراً مرتفعاً من التنوع الوراثي. ونوصي باعتماد الصفات ذات معامل التوريث المرتفع لاستخدامها كمؤشر للانتخاب ضمن برامج التربية. جدير بالذكر أن هناك حالات نادرة لوحظ فيها حالة تشابه مابين بعض الأصناف الطرية والقاسية، ويوصى في هذه الحالة بإجراء اختبارات إضافية تعتمد على تحليل DNA للأصناف المدروسة كونها طرائق غير متأثرة بالبيئة وتعطي نتائج مكملة ومدعمة للتوصيف المورفولوجي.

الفصل الثالث

التوصيف باستخدام DNA

المقدمة

يعتبر القمح من أقدم المحاصيل في العالم، ويعود تاريخ زراعته إلى أكثر من ١٠ آلاف سنة. وتفيد الآثار بأن عملية استئناسه قد تمت في ثلاثة مواقع متقاربة بمنطقة ما كان يسمى بالهلال الخصيب، الأول ضمن موقع أبو هريرة في سورية، والثاني في منطقة أريحا بالضفة الغربية في فلسطين، أما الموقع الثالث ففي منطقة Cayönü بتركيا. وتشير الدلائل التاريخية الحديثة إلى أن منشأ الأقماح البرية einkorn و emmer wheat هو ضمن

موقع أبو هريرة على ضفاف نهر الفرات بدليل وجودها ضمن هذا الموقع حتى الآن بحسب ما ذكر (Hillman et al., 2001).

يعود تاريخ البحث الزراعي في سورية لأوائل الستينات حيث تأسست الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية والتي كان ومازال من أهم أهداف برنامجها العلمي رفع إنتاجية المحاصيل الزراعية وتحسين نوعيتها مع الأخذ بعين الاعتبار تخفيض كلفة الإنتاج. وانطلاقاً من هذه الأهداف تم اعتماد مجموعة من أصناف القمح (سداسية ورباعية)، كما وإن إنتاج أصناف مرتفعة الغلة عبر برامج تربية النبات يحتاج لتزويد هذه البرامج بشكل مستمر ومتجدد بالأصول الوراثية كمصدر للمورثات المفيدة، سواءً كانت هذه المورثات مفردة، أو بشكل مجاميع مرتبطة (Ayana and Bekeke, 1998). وتتطلب هذه العملية تقييم الأصول الوراثية الموجودة وتحديد هوية الأصناف ذات الأهمية الاقتصادية، سواءً من حيث احتواءها على مواصفات زراعية مهمة، أو تميزها بغلة مرتفعة، أو تأقلمها مع الظروف البيئية المختلفة أو مقاومتها للآفات المختلفة.

وفي الوقت الحاضر تستخدم التقانات الحيوية Biotechnology بشكل فعال في أعمال التحسين الوراثي، سواءً في وضع الخطط التربوية التي تشمل اختيار المادة الأولية وتقويم نواتج العملية التربوية، أو في رفع كفاءة برامج التربية من خلال الكشف المبكر عن وجود الصفة أو الخاصية المرغوبة في المصدر الوراثي، إلى جانب التحقق من درجة الخلط أو الأصالة الوراثية وغير ذلك. لقد تم تطوير العديد من التقانات التي تعتمد على مؤشرات DNA والمستخدمة في الكشف عن التباينات الوراثية ودراسة القرابة الوراثية بين الأنواع أو الطرز الوراثية، ورسم خرائط الارتباط الوراثي، مما ساعد في تطوير برامج التربية ورفع كفاءتها.

إن عملية تحديد الهوية الوراثية للقمح باستخدام المؤشرات الجزيئية هي عبارة عن تقانة تتبع لتوصيف ومقارنة سلاسل من DNAs التابعة لطرز مختلفة من القمح. حيث أن قطع DNA والتي تتميز بتسلسل معروف ومتكرر للأسس الآزوتية للتوابع الدقيقة (Microsatellite) وذات التركيبات والأنواع المختلفة مثل (GT)n أو (CT)n متوزعة وبشكل كبير ضمن المجموعات الصبغية للكائنات الحية (Tautz and Renz, 1984) تستخدم كمؤشر في الكشف عن التباينات الوراثية بين الأفراد ويطلق عليها أحياناً

(Simple Sequence Repeat)، وتُقيّم بأنها تقانة ذات كفاءة عالية في كشف التباينات الوراثية الموجودة بين وضمن المجتمعات الحيوية (Roussel et al., 2004;Yang et al.,1994) كونها تتميز بمزايا ومؤهلات عديدة يلخصها (Röder et al.,(1998 بما يلي:

١. تكشف عن مستوى مرتفع من التباينات الوراثية.
٢. ذات تخصصية على مستوى المواقع الوراثية (Locus specificity).
٣. هي مؤشر ذو سيادة تشاركية (Co-dominance).
٤. تتميز بثباتيتها حيث أنها تعطي نفس النتيجة بإعادة التحليل عدة مرات.
٥. سهولة استخدامها وتطبيقها عبر تفاعل PCR.
٦. توزعها العشوائي والكثيف عبر المجموعات الصبغية للكائنات الحية.

هناك دراسات عديدة لتقييم وتوصيف التنوع الوراثي في القمح باستخدام مؤشرات عديدة مثل:

- تقانة RAPD (Joshi and Nguyen, 1993)
- تقانة RFLP (Siedler et al., 1994)
- تقانة AFLP (Barret and Kidwell, 1998)
- تقانة STS (Chen et al.,1994)
- تقانة ISSR (Nagaoka and Ogihara, 1997).

وتتميز أغلب هذه التقانات بإعطاء مستوى منخفض من التباينات الوراثية في القمح. أما مؤشر SSR فقد تم التأكيد على أنه من الطرائق الفعالة في تقييم التنوع الوراثي من قبل كثير من الباحثين (Chenyang et al., 2006; Yifru et al., 2006; Landjeva et al., 2006; Khlestkina et al., 2004; Roussel et al., 2004). لذا فقد تم اختيار هذه التقانة لتنفيذ أهداف هذا البحث.

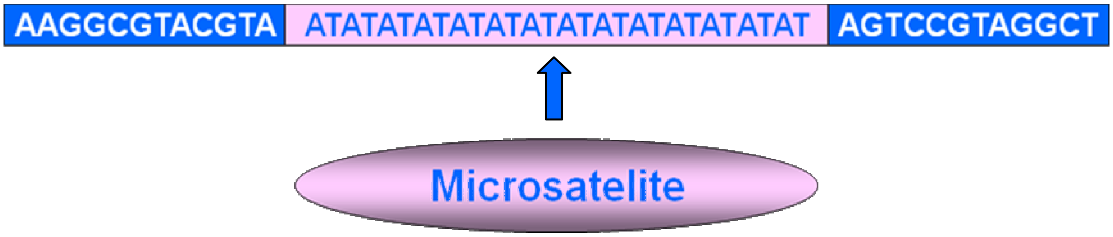
أهداف البحث:

١. تقييم التنوع الوراثي ضمن أصناف قمح مختلفة رباعية (*Triticum durum*) وسداسية (*Triticum aestivum* L.) باستخدام مؤشرات DNA-Microsatellite.

٢. دراسة تأثير عمليات التربية على مستوى التنوع الوراثي ضمن المواقع الوراثية المدروسة.

الدراسة المرجعية

يحتوي المجموع الصبغي للكائنات الراقية على ثلاثة طرز من النسخ المتعددة لسلاسل DNA المتكررة البسيطة وهي (Satellites, Minisatellites, Microsatellites) متوزعة في صفوف بأحجام مختلفة (Armour et al., 1999;). وتعرف التوابع الدقيقة أو Microsatellite كما ذكر Litt and Luty (1989) باسم Simple Sequence Repeats (SSRs). أما Tautz et al.,(1986) فقد عرفها باسم Short Tandem Repeats (STRs) أو Simple Sequence Length Polymorphism (SSLPs). كما ذكر (McDonald and Potts, 1997) أنها أصغر الطرز الثلاثة المذكورة ويتراوح طولها بحسب تصنيفات الباحثين من ٢-٨ bp (Armour et al., 1999) أو ١-٦ bp (Gold stein and Pollock, 1997) أو حتى ١-٥bp (Shlötterer, 1998)، ومن ٢-٦ bp (Chambers and MacAvoy, 2000). ويعتبر Tautz et al., (1986) أول من وصف هذا النوع من التكرارات البسيطة (Microsatellite) ضمن DNA شكل(24).



الشكل(24): قطعة Microsatellite ذات الترتيب $(AT)_{14}$ محصورة ضمن DNA غير متكرر.

وهي موجودة في منطقة حيث الاختلافات والتغيرات في بنية SSR في حدودها العظمى. ويعود ذلك لنسبة الطفرات العالية التي تحدث في هذا النوع من التكرارات. وعند دراسة هذه الطفرات وُجد أن النوع السائد منها في هذه المنطقة (Microsatellite) هي Slipped strand mispairing (Levinson and Gutman, 1987) وهي عبارة عن طفرة تحدث أثناء تضاعف DNA وتتشكل بإزاحة سلاسل DNA بعد عملية فصل السلاسل المزدوجة إلى سلاسل مفردة مما يؤدي إلى خطأ في عملية إعادة مطابقة سلاسل DNA بالنيوكليوتيدات المكملة لها مما يؤدي لكسب أو خسارة وحدة تكرارية أو أكثر من الوحدات المعروفة التسلسل المتكرر[١٠](Motif) المشكل للتابع الدقيق أو Microsatellite. بناء على هذا فإن التغيرات الألليلية هي نتيجة للتغيرات في عدد الوحدات التكرارية في بنية SSR زيادة أو نقصاناً.

إن الوحدات التكرارية المشكلة لـ SSR هي عادة بسيطة وتتكون من تكرار نيوكليوتيدين أو ثلاثة أو أربعة (di, tri, tetra nucleotides) ومثال ذلك هو التسلسل المتكرر (motif) (CA)n حيث يتراوح الرقم n من ١٠-١٠٠. وهذا المؤشر الأخير (CA) ذو قابلية عالية للكشف عن التباين الوراثي ضمن وبين الأفراد وخاصة عندما يرتفع عدد الوحدات التكرارية لأكثر من ١٠ (Queller et al., 1993).

يتم اختبار PCR الخاص بـ SSR باستخدام بادئات خاصة يتألف كل منها من شقين: الأول ويدعى Forward ويلتحم في المنطقة التي تقع قبل SSR، والثاني ويدعى Reverse ويلتحم في المنطقة التي تقع بعد SSR. وعادة يتم فصل نواتج تضاعف PCR-SSR على هلامة أكريلاميد وباستخدام صبغة نترات الفضة، أو بوجود المواد المشعة، أو باستخدام نظام الكشف بالتوهج Fluorescent detection system. إن الطريقة الأخيرة المتلخصة باستخدام بادئات موسومة بمادة متوهجة متبوعة بترحيل العينات بنظام الرحلان الكهربائي الشعري (Capillary) قد انتشرت بشكل واسع في معظم المخابر المتقدمة. ويعتبر مؤشر SSR من المؤشرات الممتازة عند استخدامه مع تقنيات الوسم بالمواد المتوهجة

---

[10] هي قطعة من DNA ذات طول قصير تستخدم كعلامة لموقع معين

Fluorescent techniques . ومن الممكن استخدام هلامة الأجاروز والتلوين بمادة بروميد الإيثيديوم في حال كانت الاختلافات الألليلية بين الأفراد المدروسة أكبر من bp١٠ لأن هلامة الأجاروز غير قادرة على كشف الاختلافات الألليلية الأقل من ذلك.

استخدم مؤشر SSR على نطاق واسع في مجال التحسين الوراثي للقمح، ورسم الخرائط الوراثية، وتحديد مواقع المورثات للصفات الزراعية المهمة، ودراسة وتحليل مواقع الصفات الكمية QTLs (Quantitative Trait Loci)، وتحليل التنوع الوراثي (Huang et al., 2002; Liu et al., 2002; Börner et al., 2000; Anderson et al., 2001).

تحليل التنوع الوراثي:

نظراً لكفاءة مؤشر SSR في الكشف عن مستوى عال من التباينات الوراثية فقد استخدم كثيراً في مجالات تحديد هوية الأصناف وتحليل التنوع الوراثي ضمن مجمعات الأصول الوراثية ودراسة العلاقات الوراثية بين الأفراد (Plaschke et al., 1995; Domini et al., 1998; Prasad et al., 2000; Stachel et al., 2000). وفي دراسة أجريت من قبل Röder et al., (2002) تبين أن ١٩ مؤشراً من مؤشرات SSR كانت كافيةً للفصل مابين ٥٠٠ صنف قمح أوروبي. أي أنه من الممكن أن يتم تسجيل وتوصيف الأصناف باستخدام الطرائق البيولوجية بسهولة وبدون كلفة عالية، في الوقت الذي كانت تتم بالطرق الشكلية. كما وأن هذه الطريقة متبعة في إدارة البنوك الوراثية لتحديد المدخلات متماثلة التركيب الوراثي إضافة لتحديد العلاقات الوراثية ضمن مجاميع محددة من المدخلات والمجمعة بناءً على مواصفات خاصة ضمن هذه البنوك (Huang et al., 2002). ساهمت دراسات التنوع الوراثي باستخدام هذا المؤشر في دحض النظرية التي تقول إن عمليات التربية تؤدي إلى فقد في المخزون الوراثي من خلال فقد بعض الألليلات عند مقارنة الأصناف المحسنة بالقديمة (Domini et al., 2000; Christiansen et al., 2002). كما واستخدمت هذه التقانة في التنبؤ عن الاختلافات في الأنسال وتحديد المجموعات المتغايرة خلال برامج التهجين (Bohn et al., 1999).

المواد وطرائق البحث

تم الحصول على الأصناف من قسم بحوث الحبوب في إدارة بحوث المحاصيل – الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وهي عبارة عن أصناف رباعية وسداسية محلية ومعتمدة بحسب الجدول (٤).

استخلاص المادة الوراثية (DNA)

مراحل استخلاص المادة الوراثية:

- تحطيم الجدر الخلوية لتحرير DNA.
- إزالة الأغشية الخلوية عن طريق إضافة منظفات (Detergent).
- إزالة البروتينات والهيستونات المرتبطة بـ DNA بإضافة أسيتات الصوديوم أو أسيتات الأمونيوم.
- ترسيب DNA وتنقيته وغالباً ما يكون ذلك باستخدام الإيثانول أو إيزوبروبانول.
- التخلص من الكحول ومن الأملاح الذوابة.
- فصل DNA عن RNA باستخدام أنزيم المحل RNAse.

إنبات حبوب القمح:

زُرعت حبوب كل طراز وراثي في كؤوس بلاستيكية ضمن تربة معقمة بمعدل من ٥–٨ حبوب من كل صنف، ثم حُضنت في غرف النمو على درجات حرارة ورطوبة وإضاءة معتدلة، وتُركت لتنمو. بعد مرور ٨–١٠ أيام استُخلص الحمض الريبي النووي منقوص الأكسجين بحسب طريقة Dellaporta, et al.,(1983) وفق الخطوات التالية:

١. قُطعت الأوراق الممثلة لكل صنف وطُحنت سوية باستخدام الآزوت السائل حتى تصبح العينة النباتية بشكل مسحوق.
٢. نُقلت المادة المطحونة إلى أنابيب أبندورف سعة 2 مل.
٣. أُضيف 500 مل من محلول الاستخلاص[11] لكل عينة من العينات المطحونة.
٤. حُضنت العينات ضمن حمام مائي على درجة حرارة 65 س° لمدة تتراوح من 15–20 دقيقة.
٥. أُضيف 180 μ L من محلول أسيتات البوتاسيوم تركيز 5 M.
٦. رُجت العينات بقوة ثم حُضنت ضمن الثلج المجروش لمدة 10 دقائق.

---

[11] ملحق المحاليل

٧. ثُفلت العينات بسرعة 14000 دورة/الدقيقة لمدة تتراوح من 25–30 دقيقة وذلك لفصل الوسط المائي الذي يحوي الأحماض النووية بشكل ذائب عن الراسب المكون من البقايا النباتية.

٨. نُقلت الرشاحة (الطور العلوي) المحتوية على الأحماض النووية إلى أنبوب جديد يحتوي على 500 μ L من كحول أيزوبروبانول واستبعد الراسب ثم قُلب الأنبوب عدة مرات بهدوء لحين بدء ظهور DNA.

٩. ثُفلت العينات لمدة 15 دقيقة وذلك لاستبعاد الرشاحة (الأيزوبروبانول) والاحتفاظ بـــ DNA في قعر الأنبوب.

١٠. غُسل DNA بـــ 40 μ L من الكحول الإيتيلي تركيز 70% وعند الضرورة يعاد الغسل والتثفيل مرة أخرى.

١١. تم التخلص من بقايا الكحول بالماصة ثم تُركت لتجف بقايا الكحول لمدة 3- 5 دقائق.

١٢. أُذيب DNA الناتج بـــ μ L50 ماء وحُفظت على درجة حرارة 4 س°.

١٣. إضافة ٤ μ L من أنزيم RNAse تركيز ١٠مغ /مل لكل عينة ثم حُضنت على درجة حرارة ٣٧ س° لمدة نصف ساعة.

قياس تركيز DNA:

تعتبر هذه الخطوة من الخطوات الجوهرية للتأكد من أن DNA ذو نوعية جيدة. لذا فقد رُحلت عينات DNA المستخلصة ضمن هلامة أجاروز تركيز ١% ولونت الهلامة بعد انتهاء الرحلان بمادة بروميد الإيثيديوم. تم قياس ومقارنة نوعية وكمية DNA بـــ DNA قياسي استخدم كشاهد لمقارنة كثافة الحزم مع كثافة الشاهد.

مؤشرات SSR المستخدمة:

استُخدم ٣٢ مؤشراً من مؤشرات SSR وهي *gwm* (Gatersleben Wheat Microsatellite) توزعت على كامل صبغيات القمح القاسي والطري بمعدل ١–٣ مؤشرات على كل صبغي، ويظهر الجدول (٢٠) المواقع ضمن مجموعة المجموعات الصبغية A, B, D والتي تم اختيارها بناءً على الخريطة الوراثية للقمح الموضوعة من قبل Röder et al.,(1998) عدا بادئ وحيد وهو المسؤول عن مضاعفة الموقع *taglgap*

والمكتشف من قبل Devos et al., (1995) والمسؤول عن صفة بروتينات التخزين. كانت كل مواقع SSR المدروسة ثنائية الترتيب النيوكليوتيدي عدا الموقع *taglgap* الذي كان ثلاثي الترتيب النيوكليوتيدي.

جدول (٢٠): وصف لمواقع SSR المدروسة من حيث مواقعها على الصبغيات، التركيب النيوكليوتيدي لكل منها، طول حزمة SSR بالصنف الشاهد Chinese spring (CS)، مدى أطوال الأليلات الناتجة ضمن هذه الدراسة.

Microsatellite	**مواقع Microsatellite على الصبغي**	**التسلسل المتكرر (Motif)**	**الطول الجزيئي لحزمة SSR بالصنف القياسي CS**	**مدى أطوال الأليلات الناتجة**
A Genome				
Xgwm 4	4A	(CA)13(TA)26	294	246
Xgwm 95	2A	(AC)16	121	101-127
Xgwm160	4A	(GA)21	184	162-184
Xgwm192	4A, 4B, 4D	(CT)46	191	129-141
Xgwm 357	1A	(GA)18	123	109-127
Xgwm 459	6A	(GA)>28	138	115-167
Xgwm 614	2A	(GA)23	152	131-159

190-200	197	(GT)23	7A	***Xgwm 631***
153-207	213	(GA)44	7A	***Xgwm 698***
126-202	162	(GA)33	3A	***Xgwm 720***
B Genome				
105-189	183	(CA)17GA(TA)4	1B	***Xgwm18***
129-179	179	(GA)2GC(GA)33	7B	***Xgwm 46***
82-88	85	(CA)10	5B	***Xgwm 67***
120-166	139	(CT)11(CA)18	2B	***Xgwm120***
145-193	176	(CA)22(TA)(CA)7(TA)9	5B	***Xgwm 408***
140-150	144	(CA)12	4B	***Xgwm 513***
120-136	130	(CA)21(GA)2(TA)8	3B	***Xgwm 566***
Null,121-207	133	(CA)14(TA)6	7B	***Xgwm 577***
135-179	148	(CT)19	2B	***Xgwm 619***
118-144	123	(GT)7(GA)24imp	6B	***Xgwm 680***
Null,213-265	282	(CAA)31	1B	***Xtaglgap***
D Genome				
74-82	79	(CA)18	3D	***Xgwm 3***
133-149	205	(CT)32(GT)17	7D	***Xgwm111***
145-225	173	(CT)22	5D	***Xgwm 174***
197-213	>201	(CT)22	5D	***Xgwm190***
119-121	141	(GA)19	1D	***Xgwm 232***
163-213	192	(CT)21	2D	***Xgwm 261***
135-149	131	(CT)16	6D	***Xgwm 325***
170-188	183	(CT)5(CACT)6(CA)43	1D	***Xgwm 337***

Xgwm 349	2D	(GA)34	230	Null,216-246
Xgwm 458	1D	(CA)13	113	106-110
Xgwm 539	2D	(GA)27	147	127-159

استخدمت البادئات الخاصة (ملحق ٢) بهذه المواقع والموسومة عند النهاية ٥َ بصبغة متوهجة Cy5 ذات لونين أصفر وأزرق(Flurescent tags) للبادئة اليمينية أو اليسارية بلون أصفر أو أزرق.

التفاعل التسلسلي للبوليميراز Polymeraze Chain Reaction

أُجري هذا التفاعل باستخدام تقانة microsatellite أو SSR (Simple Sequence Repeat) التي ورد شرحها بالتفصيل في المقدمة بحسب طريقة Röder et al., (1998) والتي تتضمن إضافة مكونات التفاعل ذو الحجم النهائي 25 µ L بحسب الجدول (٢١):

جدول (٢١): مكونات تفاعل PCR مع التراكيز والكميات المضافة لهذه المكونات

مكونات تفاعل PCR	**تراكيز مكونات تفاعل PCR**	**كميات المكونات/٢٥ µ L**
DNA قالب	50–100 نانوغرام	٥
محلول منظم لـــ PCR **(buffer 10x PCR)**	**1 M Tris-HCl PH 8** **1M KCl,** **1 M $MgCl_2$** **dH_2O**	**2.5**
dNTPs **مزيج من النيوكليوتيدات الأربعة** **(A,T,G,C)**	**10 Mm لكل نيوكليوتيد**	**2**
البادئة اليسارية (Left primer)	**10 Mm**	**١**
البادئة اليمينية (Right primer)	**10 Mm**	**1**

أنزيم Taq polymerase	وحدة أنزيمية واحدة (1 unit)	٠,٤
H_2O	-	لإكمال التفاعل حتى ٢٥

شروط تفاعل PCR-SSR المتبعة ضمن هذه التجربة

يمر تفاعل PCR بثلاث مراحل مذكورة ضمن الجدول (٢٢) حسب طريقة Röder et al., (1998).

جدول (٢٢): المراحل الحرارية لتفاعل PCR والمدة الزمنية لكل مرحلة وتكرار كل مرحلة.

مراحل تفاعل PCR	درجة الحرارة/س°	الزمن / د	التكرارت (الدورات)
مرحلة تمهيدية	٩2	3	1
فصل سلاسل(Denaturation)	9٢	1	45
التصاق البادئة بـــ DNA القالب (Annealing)	50-55-60*	1	
مرحلة استطالة (DNA extension)	72	2	
مرحلة نهائية	72	10	1

* درجات حرارة Annealing المتبعة ضمن هذه التجربة هي 50 أو 55 أو 60 س° بحسب البادئة المستخدمة.

تحليل الحزم Fragment analysis:

أجري الرحلان الكهربائي بجهاز Automated Laser Florescence express sequencer من إنتاج شركة (Amersham Biosciences). وتتضمن هذه الطريقة ثلاث مراحل:

الأولى- تحضير العينات:

بعد انتهاء تضاعف DNA ضمن تفاعل PCR يؤخذ من كل عينة ٥ µl ويضاف لكل عينة DNA شاهد داخلي (Internal standard) بكمية ٢ µ L ثم بعد ذلك يعَرَض المزيج السابق لدرجة حرارة ٩٠ س° لمدة ٣ دقائق وذلك لتحويل سلاسل DNA من سلاسل مزدوجة إلى سلاسل مفردة ثم توضع وبشكل سريع في الثلج للحفاظ على البنية المفردة لسلاسل DNA.

الثانية- تحضير الهلامة:

يحوي الجهاز على ملحقات تسمى وحدة صب الهلامة والتي هي عبارة عن السائل الذي ستتشكل منه الهلامة ويسمى (ReproGel) من إنتاج شركة (Amersham Pharmacia Biotech) وزجاجيات الهلامة (Gel cassette) إضافة إلى مكان وضع الزجاجيات وصب الهلامة (ReproSet) . يتم تنظيف الزجاجات (الصغيرة والكبيرة) بعناية فائقة وبالماء الساخن أولاً للتخلص آثار الشوائب، ثم تمسح الزجاجات بكحول الإيزوبروبانول، وبعد ذلك توضع الزجاجات في مثبت الزجاجات (ReproSet) بعد وضع المباعدات (Spacers) بين الزجاجتين الكبيرة والصغيرة، ثم تصب هلامة الأكريلاميد تركيز ٦% الخاصة بترحيل DNA ذو السلاسل المفردة (Denaturing gel) ذات السماكة ٠,٣٥ مم.

الثالثة- حقن العينات وترحيلها:

بعد تجمد الهلامة يتم تركيب مجموعة (ReproSet) ضمن جهاز(ALF express). تحقن عينات DNA الجاهزة والموضوعة ضمن الثلج في الآبار المخصصة لها، ثم يضاف المحلول المنظم TBE) buffer)[١٢].

أما شروط الرحلان فقد كانت كالتالي: 600 V, 50 mA, 50 W مع 2mW Laser power وبفترة فاصلة بين العينات بمقدار(١) ثانية. أُعيد استخدام الهلامة من ٣-٤ مرات لترحيل عينات جديدة فوقها .

جدير بالذكر أنه تم ترحيل عينات القمح الرباعية والسداسية في رحلان منفصل لكل منها ولكن حُمل الصنف الرباعي حوراني عادي مع أصناف القمح السداسية ضمن رحلان واحد. وحُملَّ الصنف السداسي قندهاري أحمر مع الأصناف الرباعية ضمن رحلان واحد، وذلك لتسهيل عملية المقارنة بين الطرز المرحلة ضمن رحلانين مختلفين

---

[12] ملحق المحاليل

أي استخدم هذان الصنفان كشاهدين قياسيين. تمت هذه العملية مع كل البادئات المستخدمة والبالغ عددها ٣٢ بادئة.

تضمن كل رحلان مؤشراً قياسياً خارجياً معلوم الوزن الجزيئي (External standard) حقن مع بقية العينات لمقارنة وقياس الوزن الجزيئي لها بناءً على هذا المؤشر. بالإضافة للمؤشر القياسي الداخلي الذي أضيف لكل عينة مسبقاً قبل أن تتعرض هذه العينات لعملية تحويل سلاسل DNA المزدوجة إلى سلاسل مفردة (Denaturation) بحسب(Röder et al., (1998. حُسبت أطوال حزم Microsatellite الناتجة باستخدام البرنامج " Fragment Analyzer Version 1.02 “ من إصدار شركة Amersham Bioscience, Freiburg, Germany

التحليل الإحصائي:

أُحصيت البيانات الناتجة عن مضاعفة مواقع SSR بإعطاء الرمز(١) لوجود الحزمة و(٠) لعدم وجودها. وحُسب بناء على ذلك التشابه الوراثي مابين الطرز المدروسة وفق معامل (1945) Dice بحسب المعادلة:

$$GS(ij)=2a/(2a+b+c)$$

GS(ij) درجة التشابه بين الفرد j والفرد i.

a عدد حزم DNA الموجودة في الفردين،

b و c عدد الحزم الموجودة بشكل منفرد في أحد الفردين.

رسمت شجرة القرابة الوراثية وفق طريقة المتوسط الحسابي للمجموعات الزوجية غير المزانة (UPGMA). وأجري التحليل العنقودي بحساب معامل SHAN وذلك باستخدام برنامج التحليل الإحصائي NTSYS (Rohlf, 2002) .

حُسب معامل التنوع الوراثي (*Gene diversity*) بالمعادلة:

$$Gene\ diversity = 1-\Sigma\, pij^2$$

حيث: *pij* يعبر عن تكرار الأليل *j* على الموقع الوراثي *i* th locus.

النتائج

بلغ العدد النهائي من الحزم المتباينة الناتجة عن تحليل ٤٩ طرازاً من القمح باستخدام ٣٢ مؤشراً من مؤشرات microsatellite ٢٥٥ أليلاً بمتوسط عدد أليلات ٧,٩٧ للموقع الواحد. تراوح عدد الأليلات الناتجة عن مضاعفة مواقع SSR من أليلين (كحد أدنى) وذلك في الموقع *Xgwm232* الموجود ضمن المجموعة الجينومية D إلى ١٨ أليلاً كحد أقصى ضمن الموقع *Xgwm 46* في المجموعة الجينومية B، مع الأخذ بعين الاعتبار أن الموقع *Xgwm4* الواقع في المجموعة الجينومية A لم يعط أياً من التباينات الوراثية، بل أعطى حزمة وحيدة متماثلة تميزت بطول جزيئي ٢٤٦ bp وظهرت ضمن كل الطرز المدروسة. بشكل عام تراوح الطول الجزيئي للأليلات الناتجة من ٧٤ bp ضمن الموقع *Xgwm3* على الصبغي 3D إلى ٢٦٥ bp ضمن الموقع *taglgap* على الصبغي 1B. كان متوسط قيمة معامل التنوع الوراثي *PIC* ٠,٦٥، وتراوحت قيمه من ٠ ضمن الموقع *Xgwm4* إلى ٠,٨٧٦ ضمن الموقع *Xgwm 459* (جدول ٢٣). بالنسبة لأنواع التسلسلات المتكررة (Motif) المستخدمة (الجدول٢٤) فقد كشف التكرار النيوكليوتيدي ذو التركيب (CA) عن أعلى مستوى من قيمة معامل التنوع الوراثي (٠,٦٧٥) يليه التركيب (GA) و (CT) اللذين أعطيا قيمة تنوع مورثي بلغت ٠,٦٧٢ و ٠,٦٨٦ على الترتيب. في حين أن التكرار النيوكليوتيدي ذو التركيب (GT) قد أعطى أدنى قيمة للتنوع الوراثي وبلغت ٠,٢٦١. ومن ناحية أخرى تبين أن التكرار المركب أعطى قيمة تنوع وراثي أعلى بالمقارنة مع التكرار البسيط وذلك بعد استبعاد الموقع *Xgwm 4* ذو التكرار النيوكليوتيدي المركب وهو (CA)13(TA)26.

جدول (٢٣): المواقع الوراثية المدروسة وعدد الأليلات الناتجة عن كل منها وقيم PICs ومتوسطات كل منهما والانحراف المعياري لها ضمن المجموعات الصبغية الثلاث على مستوى الأصناف ككل، ثم على مستوى الأصناف السداسية والرباعية.

A Genome				
Microsatellite	كل الأصناف	الأصناف الرباعية	الأصناف السداسية	

	PIC	عدد الأليلات	PIC	عدد الأليلات	**PIC**
Xgwm 4	0	1	0	1	0
Xgwm 95	0.769	7	0.753	5	0.744
Xgwm160	0.681	7	0.582	11	0.583
Xgwm192	0.418	3	0.438	5	0.278
Xgwm 357	0.681	4	0.47	7	0.778
Xgwm 459	0.876	9	0.826	6	0.802
Xgwm 614	0.612	5	0.555	3	0.653
Xgwm 631	0.261	1	0	4	0.694
Xgwm 698	0.738	7	0.666	6	0.736
Xgwm 720	0.803	7	0.713	6	0.674
المتوسط	**0.58**	**5.1**	**0.556**	**5.4**	**0.594**
العدد الكلي		**51**		**54**	
الانحراف المعياري	**0.57**	**4.24**	**0.5**	**3.54**	**0.48**
B Genome					
Xgwm18	0.359	6	0.611	10	0.771
Xgwm 46	0.692	12	0.726	12	0.576
Xgwm 67	0.704	2	0.202	4	0.653
Xgwm120	0.669	6	0.633	7	0.819
Xgwm 408	0.799	7	0.698	5	0.74
Xgwm 513	0.733	4	0.663	4	0.711
Xgwm 566	0.748	4	0.612	7	0.661
Xgwm 577	0.849	14	0.806	6	0.778
Xgwm 619	0.833	10	0.778	8	0.868
Xgwm 680	0.784	5	0.615	4	0.421
Xtaglgap	0.751	6	0.596	8	0.792
المتوسط	**0.72**	**6.91**	**0.63**	**6.82**	**0.71**
العدد الكلي		**76**		**75**	

الانحراف المعياري		**3.65**	**0.16**	**2.6**	**0.13**
	D Genome				
Xgwm 3	0.625	3			
Xgwm111	0.576	4			
Xgwm 174	0.861	8			
Xgwm190	0.715	5			
Xgwm 232	0.153	2			
Xgwm 261	0.545	4			
Xgwm 325	0.744	5			
Xgwm 337	0.8	6			
Xgwm 349	0.681	5			
Xgwm 458	0.542	3			
Xgwm 539	0.819	8			
المتوسط	**0.64**	**4.8**			
العدد الكلي		٥٣			
الانحراف المعياري	**0.2**				

جدول (٢٤): قيم معامل التنوع الوراثي، معامل الارتباط بين عدد الألليلات وعدد التكرارات المكونة لــ Motif البسيطة والمركبة، مع متوسطات قيم PIC ضمن كل مجموعة من مجموعتي Motif.

بسيطة motif	***PIC***	**معامل الارتباط**
(GT)n	0.261	
(CT)n	0.686	-0.23
(GA)n	0.672	0.07
(CA)n	0.675	0.14

متوسطPICs	**0.573**	
مركبة motif	*PIC*	
(CA)17GA(TA)4	0.359	
(GA)2GC(GA)33	0.692	
(CT)11(CA)18	0.669	
(CA)22(TA)(CA)7(TA)9	0.799	
(CA)21(GA)2(TA)8	0.748	
(CA)14(TA)6	0.849	
(GT)7(GA)24imp	0.784	
(CT)32(GT)17	0.576	
(CT)5(CACT)6(CA)43	0.800	
متوسط PICs	**0.7**	**0.17**

تصنيف الألليلات الناتجة:

كان هناك عدة أنواع من الألليلات الناتجة كما هو موضح بالجدول (٢٥):

١. ألليل صامت Null Allele: وهو ألليل غير ظاهر لعدم حدوث تضاعف للموقع الوراثي المدروس.

٢. ألليل تخصصي Specific Allele: وهو الألليل الذي ظهر لمرة واحدة ضمن صنف واحد فهو ألليل واسم للصنف.

٣. ألليل نادر Rare Allele: وهو الألليل الذي كانت نسبة تكراره أقل من ٥%.

٤. ألليل متكرر Frequent Allele: وهو الألليل الذي تراوحت نسبة تكراره من ٥-١٠%.

٥. ألليل شائع Common Allele: وهو الألليل الذي كانت نسبة تكراره أعلى من ١٠%.

٦. ألليل ثنائي Double Allele: ظهور أlليلين لكل صنف عوضاً عن ألليل واحد.

٧. أليل ثلاثي Triple Allele : ظهور ثلاثة أليلات لكل صنف عوضاً عن أليل واحد.

ظهر الأليل الصامت ضمن المواقع الوراثية *Xgwm* 577 , *Xtaglgap* الواقعة ضمن المجموعة الجينومية B والموقع *Xgwm* 349 الواقع في المجموعة الصبغية D. مع العلم بأن تفاعل PCR لهذه المواقع قد كرر للتأكد من أن عدم إعطاء أية تضاعف هو بسبب وجود ظاهرة Null allele وليس بخطأ تقني للتفاعل نفسه. أما الأليل الثنائي فقد ظهر ضمن المواقع الوراثية التالية: *Xgwm* 18, *Xgwm* 46, *Xgwm* 408, *Xgwm* 513 , *Xgwm* 566, *Xgwm619, Xgwm680, Xtaglgap, Xgwm*95, *Xgwm160, Xgwm*192, *Xgwm614, Xgwm698, Xgwm720*, *Xgwm 190, Xgwm111*

وظهر الأليل الثلاثي ضمن الموقعين الوراثيين *Xgwm160 and Xgwm720* . جدير بالذكر أن ظاهرة الأليلات المتعددة (ثنائية وثلاثية) قد ظهرت ضمن الأصناف السداسية بنسبة ١٠٠% بينما كانت لم تتجاوز نسبتها في الأصناف الرباعية ٧٣%.

يعتبر الأليل التخصصي كعامل رئيسي مساهم في رفع قيمة معامل التنوع الوراثي، وهو الأليل الأكثر تكراراً ووفرة ضمن هذه الدراسة. فقد وصلت نسبة تكراره ٣٣% في حين شكلت نسبته مع نسبة الأليلات النادرة ٧١% من العدد الكلي للأليلات.

جدول (٢٥): تصنيفات الأليلات (الأليل الوحيد، النادر، المتكرر، الشائع، ثنائي الأليل، ثلاثي الأليل، الأليل Null) حسب تواجدها ضمن المواقع المدروسة ومتوسطات تكرار كل منها.

Microsatellite	**1% الأليل الوحيد**	**2-5%ا لأليل النادر**	**6-10%الأليل المتكرر**	**>10%الأليل الشائع**	**ثنائي الأليل**	**ثلاثي الأليل**	**Null الأليل**
Xgwm 4	0	0	0	1	0	0	0
Xgwm 95	3	1	0	3	0	0	0
Xgwm160	2	6	3	3	8	4	0
Xgwm192	0	2	1	2	3	0	0
Xgwm 357	2	2	4	2	2	0	0
Xgwm 459	6	1	2	4	0	0	0
Xgwm 614	1	2	3	1	0	0	0
Xgwm 631	1	2	1	1	0	0	0
Xgwm 698	2	1	1	2	2	0	0

Xgwm 720	2	1	5	2	1	1	0
Xgwm18	8	0	3	2	4	0	0
Xgwm 46	3	1	5	8	28	2	0
Xgwm 67	1	0	1	2	0	0	0
Xgwm120	6	2	2	2	0	0	0
Xgwm 408	3	3	3	2	1	0	0
Xgwm 513	1	0	1	3	0	0	0
Xgwm 566	0	2	2	3	0	0	0
Xgwm 577	10	2	3	2	0	0	1
Xgwm 619	4	4	4	2	1	0	0
Xgwm 680	3	0	6	3	2	0	0
Xtaglgap	4	2	4	2	1	0	1
Xgwm 3	0	0	2	0	0	0	0
Xgwm111	0	3	0	1	1	0	0
Xgwm 174	4	4	0	0	0	0	0
Xgwm190	1	2	2	0	2	0	0
Xgwm 232	1	0	0	1	0	0	0
Xgwm 261	2	1	0	1	0	0	0
Xgwm 325	2	1	2	0	0	0	0
Xgwm 337	3	2	1	0	0	0	0
Xgwm 349	2	2	0	1	0	0	1
Xgwm 458	1	0	1	1	0	0	0
Xgwm 539	6	1	1	0	0	0	0
المتوسط	**2.63**	**1.56**	**1.97**	**1.78**	**1.75**	**0.22**	**0.09**

التنوع الوراثي ضمن المجموعات الصبغية A، B، D:

لقد ذُكر سابقاً أن المواقع الوراثية المختارة وعددها ٣٢ كانت متوزعة وبشكل منتظم على المجموعات الصبغية بحيث كان عددها ١٠، ١١،١١، لكل من A، B، D على الترتيب. سُجل أعلى متوسط من عدد من الألليلات الناتجة من المواقع الموجودة على المجموعة B وبلغ10.91 بينما لوحظ أقل متوسط منها ضمن المجموعة D وبلغ ٤,٧٣.

كانت أعلى قيمة لمعامل التنوع الوراثي (0.74) موجودة ضمن المجموعة الصيغية B. بينما سجلت أدنى قيمة لها ضمن المجموعة الصبغية A (٠,٥٨)، وبلغت هذه القيمة ٠,٦٤ ضمن المجموعة الصبغية D. كانت قيم معامل الارتباط بين عدد الألليلات وبين قيمة معامل التنوع الوراثي معنوية وذلك ضمن المجموعات الثلاثة وبلغت 0.87 , 0.84, ٠,٧٤ للمجموعات A, D, B على الترتيب. و بالعودة للجدول (٢٣) نجد أن ٧٠% من المواقع المدروسة ضمن المجموعة الصبغية B مكونة من تسلسل مركب (Composite motif) بينما كانت٩٠% منها والتابعة للمجموعة A ذات تسلسل بسيط (Simple motif).

التنوع الوراثي ضمن مجموعات الصبغيات السبعة المتشابهة:

سجلت أدنى قيمة لمعامل التنوع الوراثي على الصبغي ٤ وبلغت(٠,٤٥)، في حين أن أعلى قيمة كانت على الصبغي ٦ (٠,٧٧) جدول(٢٦). أما بالنسبة لمتوسط عدد الألليلات فقد بلغ أدناه على الصبغي ٤ (٦,٥) بينما كانت أعلى قيمة له على الصبغي ٧ (١٠,٦). كانت علاقة الارتباط مابين عدد الألليلات وقيم معامل التنوع الوراثي قوية ضمن كل الصبغيات وتراوحت من ٠,٩٣ على الصبغي ٣ إلى ٠,٦٦ على الصبغي ٥. إلا أنها لم تكن معنوية إلا ضمن مجموعة الصبغيات الثانية والسابعة فقط.

جدول(٢٦): قيم معامل التنوع المورثي PICs ومتوسط عدد الألليلات ومعامل الارتباط بينهما على مستوى الصبغيات.

الصبغي	PIC	متوسط عدد الألليلات	معامل الارتباط
1	0.61	7.7	0.72
2	0.72	8.3	*0.74
3	0.7	6.7	0.93
4	0.45	6.5	0.71
5	0.68	6.8	0.66
6	0.77	8.3	0.89
7	0.64	10.6	*0.82

التنوع الوراثي ضمن الأصناف الرباعية والسداسية:

كان عدد الألليلات الناتجة عن المجموعات الصبغية A و B متشابهاً في كل من الأصناف الرباعية والسداسية حيث بلغ ١٢٧ ألليلاً ضمن الأصناف الرباعية و ١٢٩ ألليلاً ضمن الأصناف السداسية . بينما كان هناك ٥٢ ألليلاً نتجت عن المجموعة الصبغية D مسببة ارتفاعاً في عدد الألليلات ضمن الأصناف السداسية ليبلغ ١٨٢ ألليلاً جدول (٢٧). كان متوسط عدد الألليلات ضمن الأصناف الرباعية (6.65) وأعلى من مثيله في الأصناف السداسية (٥,٦٦). وعلى العكس كانت قيمة معامل التنوع الوراثي ضمن الأصناف السداسية (٠,٦٥) أعلى من مثيلتها ضمن الأصناف الرباعية (٠,٥٧). كان معامل الارتباط بين عدد الألليلات وقيم معامل التنوع الوراثي قوياً (٠,٨) ومعنوياً ضمن الأصناف الرباعية ومتوسطاً(٠,٥) ومعنوياً أيضاً ضمن الأصناف السداسية.

التنوع الوراثي ضمن الأصناف المحسنة والمحلية:

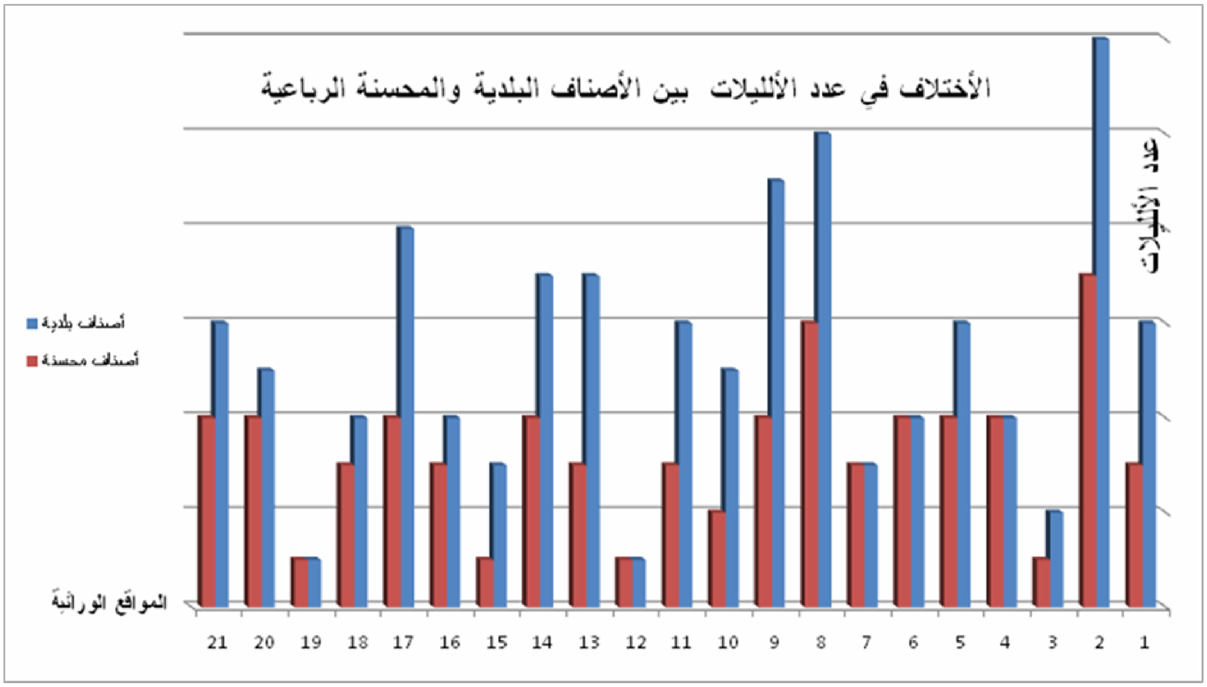
تراوح متوسط عدد الألليلات ضمن الأصناف المحلية مابين ٤,١٩-٥,٣٨ وأعلى منه في الأصناف المحسنة ٣,٢٩-٣,٧٢ ضمن الأصناف السداسية والرباعية على حد سواء. ولوحظت نفس النتيجة على مستوى معامل التنوع الوراثي حيث أظهرت الأصناف المحلية قيمة أعلى من التنوع (0.59) مقارنة بالأصناف المحسنة (0.38)الجدول (٢٧).

جدول(٢٧): قيم PIC ومتوسط عدد الألليلات، عدد الألليلات المكتسبة عبر التربية، عدد الألليلات المفقودة من الأصناف المحلية وذلك ضمن المجموعات الصبغية الثلاث.

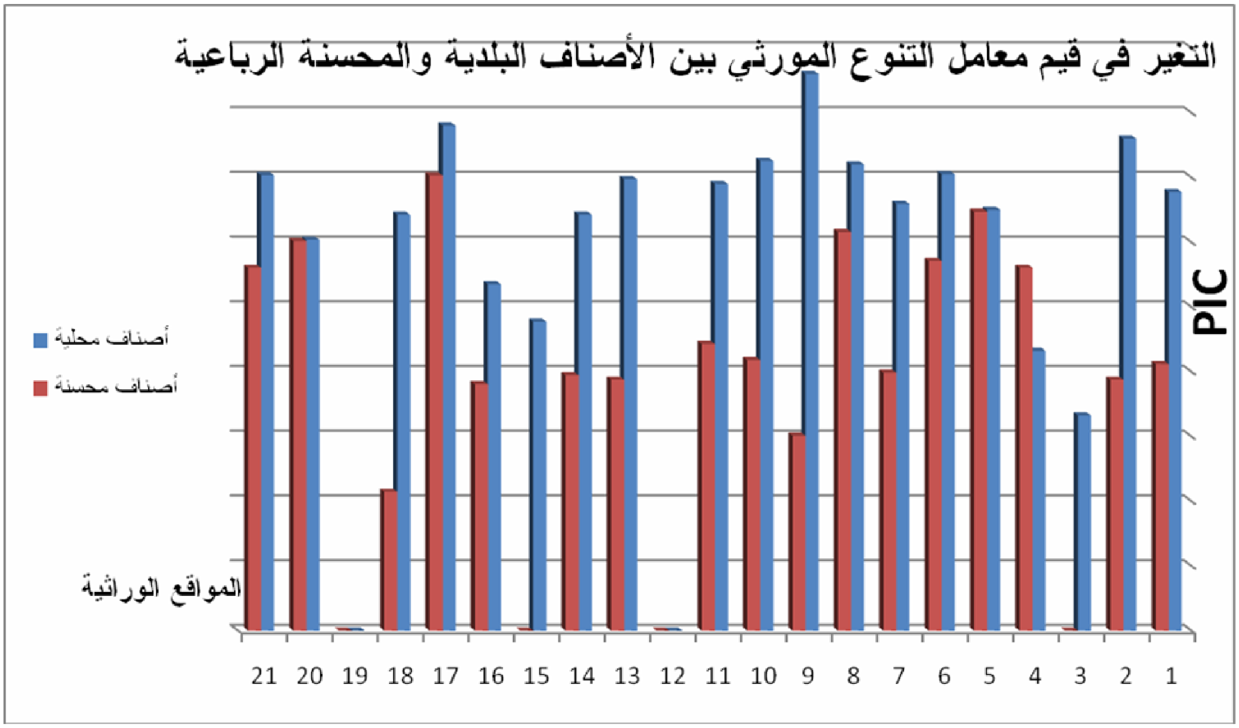
	سداسية							رباعية						
	General	محلية			محسنة			**General**	محلية			محسنة		
	ألليلات كلية	PIC	متوسط ألليلات	فقد أليلي	PIC	متوسط ألليلات	ربح أليلي	ألليلات كلية	PIC	متوسط ألليلات	فقد أليلي	PIC	متوسط ألليلات	ربح أليلي
A GENOME	54	0.55	4.3	15	0.54	4	10	51	0.51	4.6	25	0.32	2.8	5
B GENOME	75	0.62	4.6	29	0.55	4	24	76	0.66	6	36	0.43	4	9

D GENOME	53	0.61	3.6	18	0.58	3.1	11							
المجموع الصبغي	182	0.59	4.2	62	0.56	3.7	45	127	0.59	5.4	61	0.38	3.3	14

عند دراسة أثر عمليات التربية على فقدان بعض الألليلات من الأصناف المحسنة وذلك على مستوى المواقع الوراثية، نجد أن هذا الفقد قد اختلف من موقع لآخر (الشكل٢٥) حتى وصل لنسبة ٥٠% في بعض المواقع الوراثية مثل الموقع *Xgwm* 46 في الأصناف الرباعية والموقع *Xgwm* 539 في الأصناف السداسية. ومن الطبيعي أن ينعكس هذا الفقد بدوره على قيم معامل التنوع الوراثي كما هو واضح من الشكل (٢٦).



الشكل (٢٥): أثر عمليات التربية على فقدان بعض الألليلات من الأصناف المحسنة وذلك على مستوى الـــ Loci ضمن الأصناف الرباعية



الشكل (٢٦): أثر عمليات التربية على نسبة التنوع الوراثي بين الأصناف المحسنة والمحلية الرباعية من خلال قيمة معامل التنوع الوراثي PIC.

التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة:

تراوحت قيم التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة من ٠,٢٢ ضمن الأصناف السداسية إلى ٠,٢٥ ضمن الأصناف الرباعية، وبلغ بالمتوسط ٠,٢٥.

بالنسبة للأصناف الرباعية القاسية، فقد سجلت أعلى قيمة للتشابه الوراثي بين السلالتين حوراني أيوبية وحوراني A، في حين تكررت أدنى قيمة (0.05) ثلاث مرات:

١. بين صنفي القمح القاسي المحسن دوما ٢٠٦٠٢ والمحلي حوراني B.
٢. بين الصنفين المحليين فرعوني A وحوراني ٢٧.
٣. بين الصنف محلي حوراني A والصنف المحسن شام ٣. جدول (٢٨)

أما على صعيد الأصناف السداسية فقد كانت أعلى قيمة من التشابه الوراثي وهي ٠,٤٨ بين الصنفين المحليين بريجي وقندهاري أبيض. وسجلت أقل قيمة (٠,١) بين:

١. الصنفين المحليين بلدية حمرا وبريجي.

٢. بين الصنف المحلي بلدية حمرا والصنف المحسن بحوث ٦ جدول (٢٩).

جدول ٢٨

جدول (٢٩): قيم التشابه الوراثي بين الأصناف السداسية المدروسة حسب معامل Dice

	الأصناف	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
1	Bohouth.6	1											
2	Salamoni	0.12	1										
3	Breiji	0.36	0.13	1									
4	Bohouth.4	0.17	0.32	0.23	1								
5	Sueid	0.21	0.16	0.30	0.46	1							

6	Baladye_hamra	0.10	0.66	0.10	0.33	0.23	1						
7	Douma.2	0.14	0.12	0.23	0.19	0.26	0.15	1					
8	Kandahari_ahmar	0.31	0.23	0.22	0.29	0.16	0.23	0.24	1				
9	Florence_oror	0.12	0.36	0.18	0.28	0.12	0.35	0.11	0.27	1			
10	Sham.4	0.15	0.13	0.15	0.32	0.22	0.26	0.18	0.29	0.24	1		
11	Sham.8	0.12	0.25	0.12	0.29	0.15	0.23	0.06	0.16	0.32	0.22	1	
12	Kandahari.abyad	0.19	0.17	0.48	0.11	0.29	0.22	0.15	0.17	0.08	0.24	0.21	1

التحليل العنقودي:

أصناف القمح الرباعية:

تحتوي مجموعة الطرز المدروسة على ٣٧ صنفاً رباعياً، حيث كان ٢٠ صنفاً منها عبارة عن أصناف محلية، أما الطرز الباقية فهي محسنة. وعند العودة لمخطط التحليل العنقودي الخاص بالقمح القاسي(شكل ٢٧) نجد أنه تألف من أربعة مجموعات:

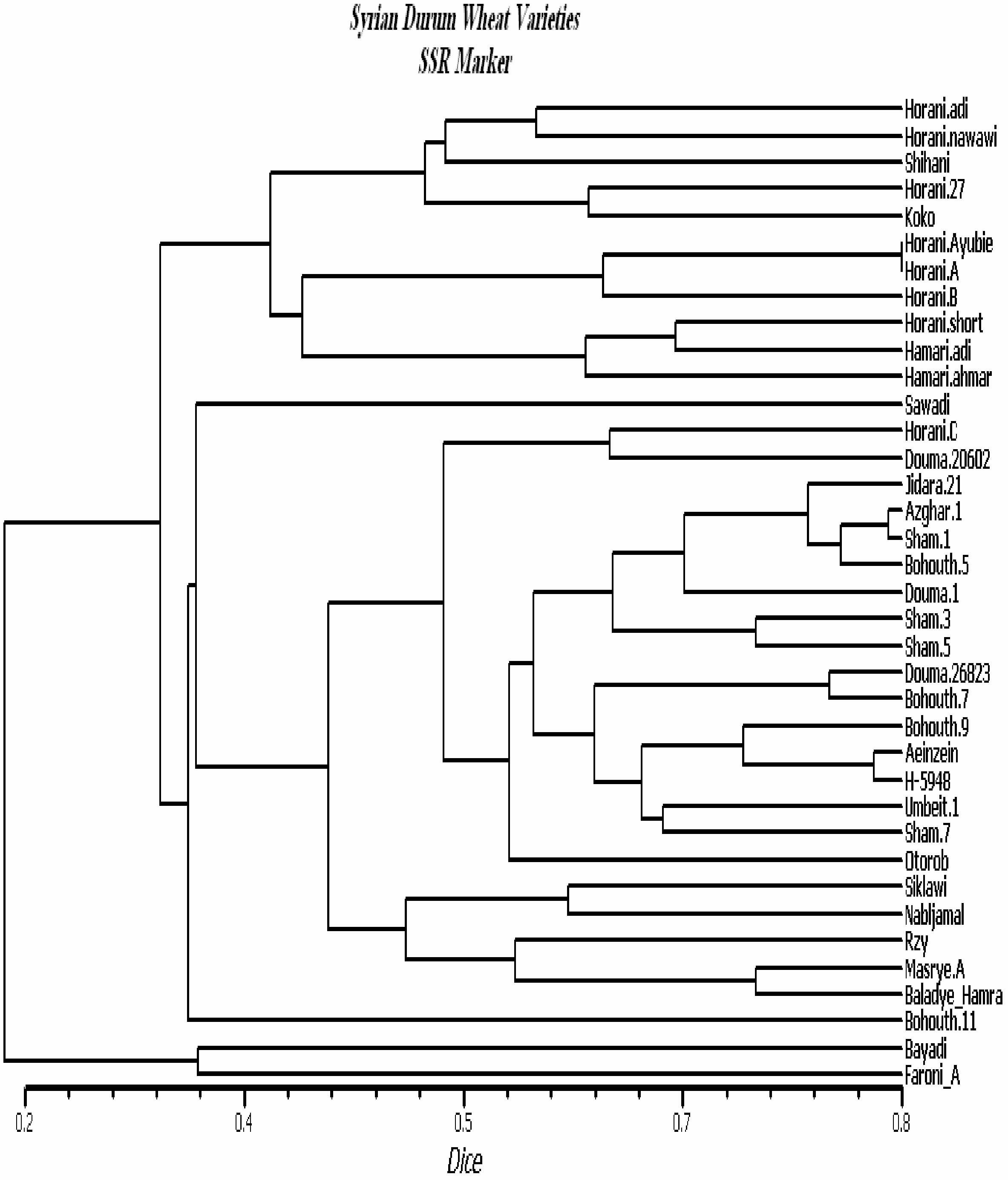
١. **المجموعة الأولى:** مؤلفة من ١٢ طرازاً كلها محلية قديمة، وقد تضمنت سلالات الحوراني المدروسة كافةً عدا حوراني C والذي أُدرج في المجموعة الثانية وسلالات بلدية أخرى مثل شيحاني وقوقو.

٢. **المجموعة الثانية:** وتضمنت خمسة تحت مجموعات وهي كالتالي:

- تحت المجموعة الأولى: وهي الأصغر وضمت طرازاً محلياً وحيداً (سوادي).

- تحت المجموعة الثانية: وضمت طرازين الأول محلي وهو حوراني C، والثاني محسن وهو دوما ٢٠٦٠٢.
- تحت المجموعة الثالثة: وهي الأكثر عدداً وضمت ١٥ طرازاً رباعياً وجميعها محسنة وهي (جدارا ٢١، أزغار ١، شام ١، بحوث ٥، دوما ١، شام ٣، شام ٥ دوما ٢٦٨٢٣، بحوث ٧، بحوث ٩، عين زين، H-5948، أم بيت ١، شام ٧، أوتوروب).
- تحت المجموعة الرابعة: وضمت خمسة طرز محلية هي (سكلاوي، ناب الجمل رزي، مصريةA، بلدية حمرا).
- تحت المجموعة الخامسة: وضمت صنفاً وحيداً محسناً وهو بحوث ١١.

٣. **المجموعة الثالثة:** وضمت طرازين محليين (بياضي، فرعوني A).



الشكل (٢٧): مخطط التحليل العنقودي الذي يعبر عن القرابات الوراثية بين الأصناف الرباعية المدروسة باستخدام تقانة SSR.

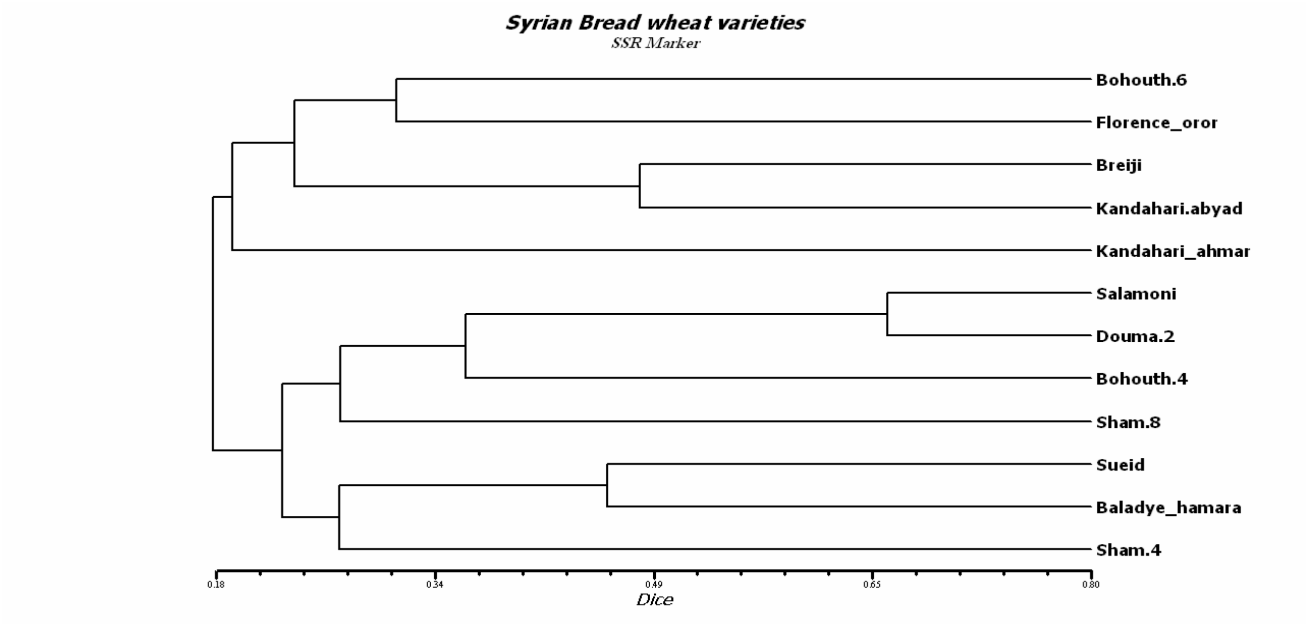
أصناف القمح السداسية:

لقد تضمنت هذه المجموعة ١٢ طرازاً، سبعة منها محلية والخمسة الباقية محسنة. تألف مخطط التحليلي العنقودي(شكل ٢٨)من مجموعتين:

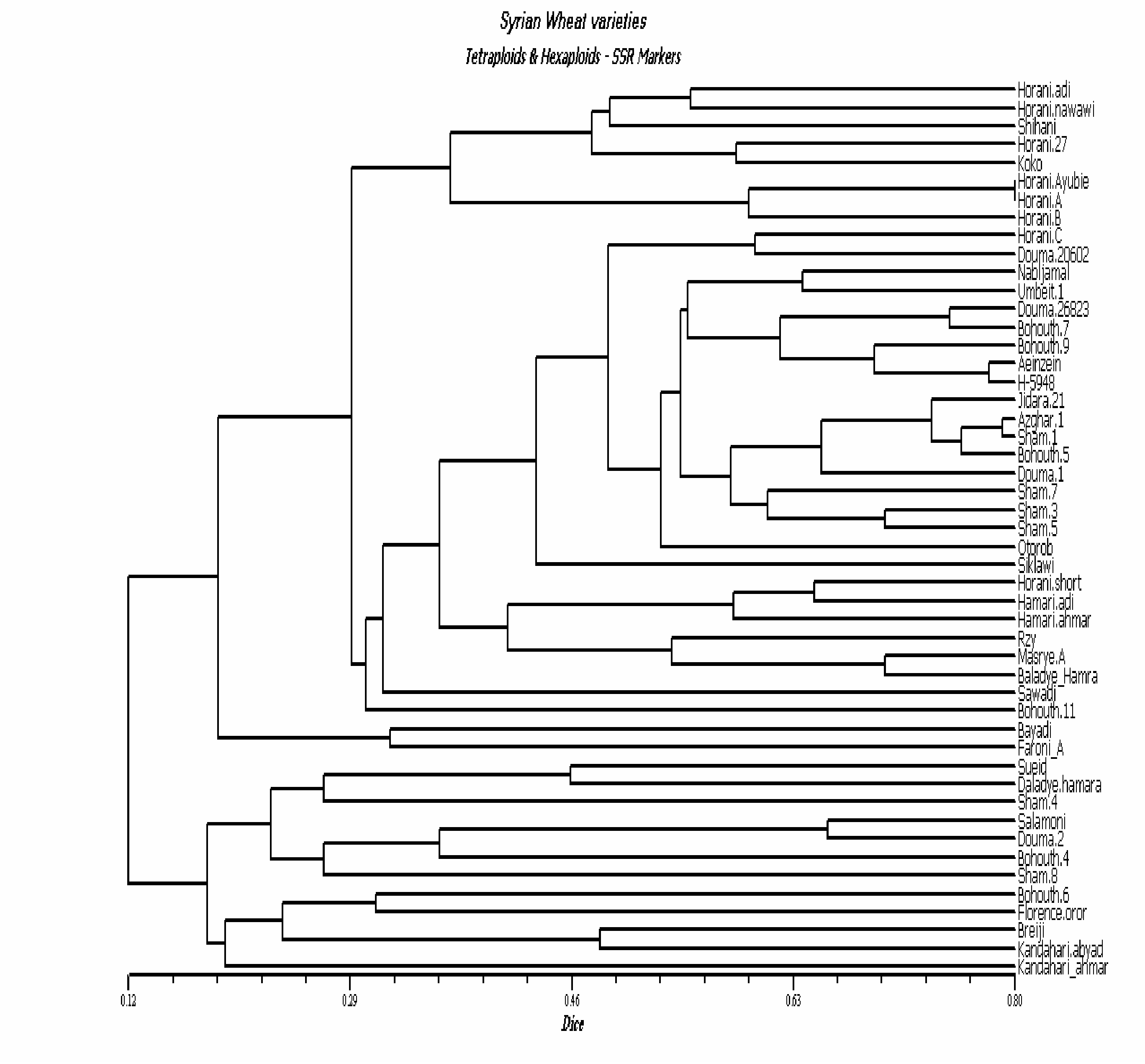
- الأولى: وضمت خمسة طرز، أربع منها كانت محلية (فلورنس

أورور، بريجي، قندهاري أحمر، قندهاري أبيض) والخامس محسناً (بحوث ٦).

- الثانية: وضمت سبعة طرز، ثلاث منها محلية (سلموني، سويد، بلدية حمرا) في حين كانت الباقية محسنة (دوما ٢، بحوث ٤، شام ٨، شام ٤).



الشكل (٢٨): مخطط التحليل العنقودي الذي يعبر عن القرابات الوراثية بين الأصناف السداسية المدروسة باستخدام تقانة SSR.



الشكل (٢٩): مخطط التحليل العنقودي الذي يضم الأصناف الرباعية والسداسية سوية وفيه يظهر الانفصال التام للأصناف الطرية في مجموعة مستقلة عن الأصناف القاسية مظهراً أثر المجموعة الصبغية D في فصل الأصناف الطرية عن الأصناف القاسية.

المناقشة

تبين من خلال نتائج الرحلان وإحصاء الأليلات الناتجة من حيث عددها وأطوالها الجزيئية وجود نوعين من التطور الألليلي:

١. توزع الألليلات الناتجة عن كل موقع بشكل منتظم في ازدياد ثنائي منتظم لكل أليل بمقدار زوج من القواعد النيوكليوتيدية، أو ثلاثي (الموقع *Xtaglgap*). فمثلا نتج عن الموقع *Xgwm 46* ١٧ أليلاً كان أول أليل منها ذو طول جزيئي bp١٢٩. كما لوحظ غياب الأليلين المتتابعين ذوا الأطوال (١٣١ و bp١٣٣) لتظهر فيما بعد الأليلات ابتداءً من الطول الجزيئي من ١٣٥ bp، وحتى ١٧٩ bp وبزيادة ثنائية منتظمة مطردة. إن هذا النوع من التوزع الأليلي وُجد ضمن ٤٧% من المواقع المدروسة، وهذا ما يفسر بأن الاختلافات الوراثية التي طرأت على المجموعة الصبغية للقمح أثناء عملية التطور قد تمت بشكل مطرد ومستمر منتظم مع وجود بعض الفراغات الأليلية التي لاتتعدى أليلاً أو إثنين. لقد فسر Di Rienzo et al., (1994) هذه الظاهرة والتي تفترض أن أغلب التغيرات الوراثية الناتجة عن حدوث الطفرات تحدث بشكل منتظم عن طريق الزيادة أو النقصان في عدد الوحدات المتكررة المكونة لـــ SSR.

٢. تتميز الأليلات الناتجة بوجود فراغات جزيئية فيما بينها، أي أن هناك قفزات أليلية كبيرة بلغت في بعض المواقع ٢٦ أليلاً كما في الموقع gwm174 على الجينوم D. وقد ظهر هذا النوع من التوزع الأليلي ضمن ٥٢% من المواقع المدروسة. هذه الظاهرة موجودة وموثقة ضمن مدى واسع من الكائنات الحية بما فيها الإنسان (Di Rienzo et al.,1998)، وسجلت أيضا ضمن النوع *D. melanogaster* (Schlötterer et al., 1998) وفي الخمائر (Yeast) (Henderson and Petes, 1992).

المواقع الوراثية (Loci):

استُخدم ضمن هذه الدراسة ٣٢ مؤشراً من مؤشرات Microsatellite لتوصيف ٤٩ صنفاً من أصناف القمح الطري والقاسي. ونتج عن ذلك ٢٥٥ أليلاً كلياً. كان متوسط عدد الأليلات الناتجة ٧,٩٧ أليلاً، ومتوسط معامل التنوع الوراثي(PIC) للمواقع المدروسة ٠,٦٥. هذه

النتيجة مشابهة لدراسة سابقة قام بها Khlestkina et al., (2004) على القمح حيث كانت قيمة *PIC* الناتجة ٠,٧، بمتوسط عدد للألليلات بلغ ٦,٦، وذلك عند تحليل ٥٤ صنفاً من القمح الطري، ومشابهة أيضاً لما وجده Prassad et al., (2000) حيث بلغت قيمة معامل التنوع الوراثي في الدراسة التي أجراها على ٥٥ صنفاً من القمح ٠,٧١، وبمتوسط عدد من الألليلات ٧,٤. وعند تحليل ١٠٥ أصناف من القمح في الأرجنتين من قبل Manifesto et al., (2001) تبين أن قيمة التنوع الوراثي بلغت ٠,٧٢، وبمتوسط عدد من الألليلات أعلى مما حصلنا عليه في هذه الدراسة وبلغ ٩,٤، في حين بلغت قيمة معامل التنوع الوراثي ٠,٦٩ ومتوسط عالي من عدد من الألليلات بلغ ١٧,٦ وذلك عندما وصَّف كل من Chenyang et al.,(2006) ١٦٨٠ صنفاً محسناً من القمح. ضمن هذا المجال حصل Yifru et al., (2006) على مستوى أعلى من قيمة PIC بلغت ٠,٩٥، وسجل أعلى متوسط لعدد الألليلات (١٣,١٤)عندما حلل ١٣٣ صنفاً أثيوبياً محلياً و٨ أصناف مدخلة. ولوحظت نتائج مشابهة على الدخن حصل عليها Kapila et al.,(2008) في الهند حيث استخدم ٣٤ مؤشراً من مؤشرات SSR في توصيف ٧٢ طرازاً من الدخن وتبين أن متوسط عدد الألليلات بلغ ٦,٢٦ و بلغ معامل PIC ٠,٥٨.

كما وجدت علاقة ارتباط معنوية بلغت ٠,٦٦ مابين عدد الألليلات الناتجة عن المواقع المدروسة ومابين قيمة معامل التنوع الوراثي لهذه المواقع، وهذا مشابه لما وجده Huang et al., (2002) و Roussel et al., (2004) إذ بلغت قيمة معامل الارتباط 0.73 وعلى العكس لم يجد Prasad et al., (2000) أية علاقة ارتباط بين متوسط عدد الألليلات وقيمة PIC المُتحصل عليها ضمن المواد التي درسها.

ظاهرة Null allele:

تعتبر هذه الظاهرة شائعة نسبياً عند استخدام مؤشر SSR في القمح (Devos et al., 1995; Plaschke et al., 1995) وتفسر بحدوث طفرة مكان التحام البادئة المحيطة بـــ Microsatellite مما يؤدي لعدم إتمام عملية الالتحام وبالتالي عدم مضاعفة التسلسل النيوكليوتيدي

المتكرر (motif) من خلال تفاعل PCR. ومن المقترح أن أصل هذه الظاهرة هو حدوث طفرة من نوع الحذف (Deletion) ضمن القطعة الصبغية المحتوية على SSR والمنطقة المحيطة بها.

ظاهرة الأليل التخصصي والأليلات النادرة:

يظهر الجدول رقم (٢٥) أن نوعي الأليلات التخصصي والنادر (نسبتهما أقل من ٥%) قد ظهرا بنسبة ٧١ % من العدد الكلي للأليلات، وهي نسبة مشابهة لما وجده Röder et al.,(2002) عند توصيف ٥٠٠ صنف من القمح الأوروبي إذ بلغت ٧٢%. إن ارتفاع نسبة هذا النوع من الأليلات يجعل منها مساهماً رئيسياً للتنوع الوراثي الكلي الموجود ضمن المجموعة كما ذكر Roussel et al., (2004).

لوحظ وجود ظاهرة Heterozygosity أو اختلاف اللواقح والمعبر عنا بظهور أليلين أو أكثر عن استخدام بادئة واحدة من بادئات SSR في ١٣ موقعاً وراثياً من ضمن المواقع المدروسة، وقد ظهرت بأعلى تكرارية لها (٢٨ مرة) ضمن الموقع الوراثي *Xgwm 46*. ووُجد أن الصنف السداسي المحسن بحوث ٦ قد تميز بأعلى نسبة حدوث لهذه الظاهرة وبأعلى رقم من الحزم إذ بلغ نصيبه من الأليلات الناتجة ٣٩ أليلاً. يليه في ذلك الأصناف المحلية السداسية سلموني، بريجي، قندهاري أحمر. أما ضمن الأقماح الرباعية فقد وجدت هذه الظاهرة بأعلى نسبة لها ضمن الصنف المحسن أم بيت ١، تبعه في ذلك الأصناف المحلية حوراني B، حماري (عادي، أحمر)، بياضي. وربما يعود ذلك لحدوث حالة من التلقيح الخلطي أو لطفرة أثناء المراحل المبكرة لإنتاج البذور (Seed Set) أو لوجود حالة من الخلط الميكانيكي.

تعتبر ظاهرة انزلاق الشريطة (Strand slippage) من الظواهر الأكثر استخداماً في تفسير ارتفاع مستوى التباين (Polymorphism) ضمن سلاسل Microsatellite وقد أشار لذلك العديد من الباحثين(Levinson and Gutman 1987; Tautz and Schlöterer 1994). ويفترض Wolff et al,. (1991) بأن ظاهرة العبور غير المتساوي (Unequal crossover) ضمن منطقة Microsatellite هي المسؤولة عن حدوث هذه النسبة العالية من التباينات.

لقد أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود نسبة عالية من عدم تماثل اللواقح أو Heterozygosity بلغت ٤٠% من ضمن المواقع الوراثية المدروسة، مما يجعل مؤشر SSR من الأنظمة الموثوق بها للكشف عن مستوى عالٍ من التباينات الوراثية ضمن أصناف القمح. لقد توصل Khlestkina et al., (2004) إلى هذه النتيجة أيضاً وعزى وجود المستوى المرتفع منHeterozygosity إلى الاختلافات الوراثية (Heterogeneity) الناتجة عن استخلاص DNA من مجموعة بذور بلغت ٥ بذور لكل صنف، أي لعدم نقاوة الصنف.

التسلسل النيوكليوتيدي المتكرر Motif:

تشير نتائج بعض الدراسات التي اعتمدت تقانة SSR في توصيف أصناف القمح أنه كلما حملت SSR ثنائية النيوكليوتيد عدداً أكبر من الوحدات المتكررة (Repeat unit) كلما كان الناتج من عدد الألليلات أكبر، أي أن هناك علاقة ارتباط ايجابية مابين عدد الوحدات المتكررة المؤلفة لــ SSR ومابين عدد الألليلات الناتجة. وقد أشار لذلك أيضاً Bell and Ecker, (1994); Yang et al., (1994) في دراسة أجريت لتوصيف نبات *Arabidopsis* والأرز. هذه النتيجة لم تتحقق ضمن دراستنا الحالية حيث لوحظ أحياناً أن بعض التسلسلات النيوكليوتيدية المتكررة مثل $(CT)_{46}$ قد أعطت عدداً من الألليلات بلغ ٥ بينما أعطت $(CT)_{19}$ ذات رقم التكرار الأقل١٤ ألليلاً. وتأكدت هذه النتيجة أيضاً من قبل Domini et al., (1998) الذي لم يجد علاقة ارتباط بين العاملين آنفي الذكر في دراسة سابقة على الشعير.

في هذه الدراسة وُجد أن SSR ذات التركيب المركب (Composite SSR motifs) كان لها القدرة على الكشف عن مستوى أعلى من التباينات، مقارنة بـــSSR ذات التركيب البسيط (Simple SSR motifs) (الجدول٢٤)، وهذا متطابق مع ماوجده Bachtrog et al., (1999). وربما يعود ذلك لكون معدل حدوث ظاهرة Slippage يزداد بوجود SSR المركبة والأكثر طولاً.

لقد فسرت عملية ظهور ألليلات جديدة عبر ثلاث آليات مقترحة:

١. Replication slippage (Tachida and Lizuka, 1992)

٢. ظاهرة العبور غير المتساوي (Harding et al.(, 1992

٣. حدوث اتحادات وراثية جديدة Genetic recombination. (Kuhlman et al., 2008).

المجموعة الصبغية:

أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع عدد الألليلات الناتجة عن المواقع الموجودة على المجموعة الصبغية B عن مثيلتها الناتجة عن المجموعتين الصبغيتين A و D، وبما يتوافق مع دراسات سابقة عديدة تمكن فيها الباحثون من الحصول على النتيجة ذاتها (Röder et al., 1998; Huang et al., 2002; Hao et al., 2006 You et al., 2004; Alamerew et al., 2004; khlestkina et al., 2004) مما يؤدي للاستنتاج بأن الصبغيات التابعة للمجموعة الصبغية B أكثر غنىً بنماذج كثيرة من تكرارت DNA وخاصة Microsatelitte من مثيلاتها المنتمية للمجموعتين A وD. جدير بالذكر أن Stephenson et al., (1998);Röder et al.,(1998); Cuadrado and Schwarzacher (1998) أظهروا أن المجموعتين الصبغيتين B و D أكثر غنىً بـــ SSR مقارنة بـــ A. وقد يفسر انخفاض مستوى التنوع الموجود على المجموعة الصبغية A باحتوائها على مورثات، أو مواقع مورثات الصفات الكمية المسؤولة عن توريث صفات زراعية مرغوبة (Domestication and agronomic trait).

الصبغيات:

تميز الصبغي ٤ بأقل قيمة للتنوع الوراثي مقارنة ببقية الصبغيات من خلال المواقع المدروسة ضمن هذا البحث. وقد فسر Huang et al., (2002) هذه الظاهرة كنتيجة لعمليات التربية والانتخاب لمورثات تحمل صفات معينة مرغوبة أدت لانخفاض نسبة التنوع. ومن الممكن أن البنية التركيبية للمجموعة الرابعة من الصبغيات ذات طبيعة ثابتة وقابليتها للطفور ضعيفة (Conserved). من ناحية أخرى نجد أن موقعين من مجموعة المواقع المنتخبة والموجودة على الصبغي٤ وهي (*gwm4, gwm160, gwm513, gwm192*) يقعان بالقرب من المنطقة المركزية Centromere وهما *gwm513* و *gwm4* وهي منطقة معروف أنها الأقل تنوعاً مقارنة بباقي مناطق الصبغي. وتتوافق هذه النتائج مع

ما وجده Huang et al., (2002) وتختلف مع You et al., (2004) الذين أشاروا إلى أن الصبغي ١ هو الأقل تنوعاً، بينما تميز الصبغي ٤ بمستوى متوسط من التنوع.

التحليل العنقودي:

بينت نتائج هذه الدراسة أن العدد ٢٤٥ ألليلاً كان كافياً للفصل مابين جميع الأصناف المدروسة وراثياً. وهذه النتيجة مختلفة مع ماوجده Zhang et al., (2002) والذي اقترح ضرورة وجود ٣٠٠-٣٥٠ ألليلاً لتتم عملية الفصل مابين أصناف القمح المدروسة مع شجرة قرابة وراثية تظهر العلاقات الوراثية بين الأصناف المدروسة. أما Al khanjari et al., (2007) فقد أشار إلى تلازم وجود ٣٠٥ ألليلات للقيام بالمهمة ذاتها في دراسة أجراها على القمح العماني. في حين ارتفع هذا العدد عند You et al., (2004) ليبلغ ٥٥٠ ألليلاً نتجت عن ٧٣ موقعاً من مواقع SSR.

لقد أظهر مخطط التحليل العنقودي(الشكل٢٧) عملية الفصل المبنية على أساس التشابه الوراثي بين الأصناف الرباعية المدروسة، وأدى لإدراجها في عناقيد تبعاً لأصلها الوراثي، مع وجود بعض الاستثناءات لبعضها الآخر. فمثلاً يلاحظ أن الأصناف المحلية قد أدرجت سوية في عنقود واحد، بينما أتت الأصناف المحسنة في عنقود آخر مستقل عدا الصنف المحلي حوراني C الذي أدرج مع العنقود الخاص بالأصناف المحسنة، والصنف المحسن بحوث ١١ الذي أُدرج مع العنقود الخاص بالأصناف المحلية. ولوحظت الظاهرة نفسها ضمن الأصناف السداسية (الشكل٢٨) وذلك ضمن تحت العنقود الأول. بينما كان الوضع مختلفاً ضمن تحت العنقود الثاني الذي تشكل من مزيج من الأصناف السداسية المحسنة والمحلية مما يدل على وجود درجة من التقارب والتشابه الوراثي فيما بينها.

من خلال مخططات التحليل العنقودي تتضح كفاءة وقدرة تقانة Microsatellite في الكشف عن مستوى واسع من التباين الوراثي حتى ضمن الأصناف المتقاربة وراثياً من الأصناف السداسية والرباعية، كما يمكن استكشاف قدرة هذا المؤشر على تحديد هوية مجموعات ذات نسب مختلفة من التشابه الوراثي، لدرجة أن استخدامه كان ممكناً للفصل حتى بين السلالتين الأختين حوراني أيوبية وحوراني A واللتين

بلغت نسبة التشابه الوراثي بينهما ٨٠%. مما يدل على أن استخدام عدد قليل نسبياً من مؤشرات SSR كان كافياً ليعطي تقييماً منطقياً ومقبولاً عن مستوى التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة.

وأظهر المخطط العام للتحليل العنقودي(الشكل ٢٩) والذي شمل الأصناف الرباعية والسداسية سويةً ضمن مخطط واحد إمكانية فصل نوعي الأقماح ضمن مجموعتين منفصلتين بناءً على التركيب الوراثي لكل منهما وهذا مشابه لما وجده Alamerew et al., (2004) حينما انفصلت الأصناف السداسية والبالغ عددها ١٧٩ في مجموعة مستقلة عن بقية الأصناف الرباعية والبالغ عددها ٦٢٩ والتي أُدرجت بدورها ضمن مجموعة مستقلة عن الأولى. ومن هذه المعطيات نستطيع الاستنتاج أن عدداً قليلاً نسبياً من مؤشرات SSR قد يكون كافياً ومفيداً للتمييز مابين الأفراد المدروسة. وسجلت نتائج مشابهة من قبل Wei et al., (2005) حينما استخدم ٤٠ مؤشر SSR لتحليل ٢٤ صنفاً محلياً من القمح المقاوم لمرض الذبول *Fusarium* head blight.

الأصناف المحلية والأصناف المحسنة:

تعتبر صفة ارتفاع الغلة والمواصفات المتعلقة بها، مع المواصفات التكنولوجية للقمح وصفة مقاومة الجفاف، والصقيع والرقاد والأمراض، من أهم أهداف برامج التربية في سورية.

وبالعودة للجدول (٢٧) يلاحظ وجود عدد أكبر من الألليلات في الأصناف المحلية مقارنةً بالأصناف المحسنة، وقد انعكس هذا بدوره على متوسط معامل التنوع الوراثي الذي كان أعلى في الأصناف المحلية منه في المحسنة وذلك ضمن الأصناف الرباعية والسداسية على حد سواء. هذه النتيجة مشابهة لما وجده You et al.,(2004). إلا أنه في بعض الحالات كان الوضع فيها مختلفاً وذلك عند النظر على مستوى الموقع الوراثي مثال ذلك الموقع *Xtaglgap* الذي هو عبارة عن موقع لــ ٣ ألليلات (234، ٢٤٠، ٢٥٣) من أصل ٦ ألليلات موجودة ضمن الأصناف المحلية الرباعية ونتج عن هذا النقص انخفاض في قيمة التنوع المورثي الناتجة. وعلى العكس، فقد لوحظ ضمن الأصناف

السداسية أن عديد الأليلات قد ازداد من ٥ في الأصناف المحلية ليصبح ٦ في المحسنة حيث فُقد أليلان من الأصناف المحلية (243 ,231) وتم كسب ثلاثة أليلات جديدة (265 ,262 ,253) جدول (٣٠).

بشكل عام، هناك عدة أشكال من العلاقات مابين عدد الأليلات وقيمة معامل التنوع الوراثي وذلك عند مقارنة كل منهما مابين الأصناف المحلية والمحسنة وذلك على مستوى كل من المواقع الوراثية المدروسة. ويمكن أن يفسر هذا بوجود تغيرات وتبدلات نوعية أكثر من كونها تغيرات كمية وذلك ضمن التركيبة الوراثية التي طرأت على المحتوى الوراثي أثناء عمليات التربية. كما وأن تجميعات الأليلات ضمن الموقع الواحد هي عبارة عن نتيجة لفقد أليلات من الأصناف المحلية، وإدخال أليلات جديدة إلى الأصناف المحسنة أثناء عمليات التربية. فمثلاً لوحظ في الموقع *gwm 120* وجود أليلين ضمن الأصناف المحلية وهما ١٤٤, ١٥٢ قد فقدا من الأصناف المحسنة، في حين نلاحظ وجود أليلين جديدين وهما ١٥٦, ١٥٨، وهذان الأليلان لم يكونا موجودين ضمن الأصناف المحلية إنما تم كسبهما عن طريق عمليات التربية.

مثال آخر عن هذه الحالة يظهر عند دراسة حركة الأليلات ضمن الموقع *gwm408* حيث سجل فقد عدة أليلات كانت موجودة ضمن الأصناف المحلية وهي ١٤٩،١٧٥، ١٧٧. ومن ناحية أخرى لوحظ كسب لأليل جديد وهو ١٨٣ تم إدخاله للأصناف المحسنة أثناء عمليات التربية.

دول(٣٠): التغيرات الألليلية الناتجة عن عمليات التربية ضمن الأصناف المحلية والأصناف المحسنة السداسية والرباعية.

الأصناف الرباعية						الأصناف السداسية				
الألليلات المكتسبة عبر التربية	الألليلات المفقودة من الأصناف المحلية	الألليلات المكتسبة عبر التربية	الألليلات المفقودة من الأصناف المحلية	الألليلات الباقية بعد عمليات التربية	الموقع	الألليلات المكتسبة عبر التربية	الألليلات المفقودة من الأصناف المحلية	الألليلات الباقية بعد عمليات التربية	الألليلات المكتسبة عبر التربية	الألليلات المفقودة من الأصناف المحلية
0	3	0	177,183,189	175,179,181	*xgwm 18*	139,145,157,175	105, 137,141, 143, 177, 181,	0	4	6
0	5	0	157, 161, 163, 165, 173	155, 159, 167, 169, 171, 177, 179	*xgwm 46*	137, 159, 161, 173, 177,	135,151,157,171	129,143, 163	5	4
0	2	0	84, 86	0	*xgwm 67*	82	84	86,88	1	1
2	2	158, 166	144, 153	130, 156	*xgwm 120*	120,150	146,154,160	130,138	2	3
1	3	183	149, 175, 177	147, 151, 181	*xgwm 408*	179,193	145,171	177	2	2
0	0	0	0	140, 142, 144, 146	*xgwm 513*	140,150	142,144	146	2	2
1	1	120	126	122, 128	*xgwm 566*	120,128	122,126	124,130, 136	2	2
4	8	143, 153, 165, 207	121, 127, 141, 159, 163, 187, 195, 201	null, 151	*xgwm 577*	155	137,159	161,163	1	2

3	1	139,143, 175	135,137,141	155	*xgwm 619*	143, 145, 153	135, 137, 141, 147, 149, 151	159	6	1
2	1	124	118,144	134	*xgwm 680*	122,134	124,126,132	0	3	0
2	3	213,237, 240	231,243	153,262,265	*xtaglgap*	null, 222, 247	134, 240, 253	0	3	0
0	0	246	0	0	*xgwm 4*	246	0	0	0	0
3	1	123	101,119,121	107	*xgwm 95*	107, 119, 121	109, 123, 125, 127	0	4	0
2	2	162,168, 172, 174, 178, 204	166, 182	180, 184	*xgwm160*	180, 182	178, 188, 190, 206, 208		5	0
1	1	129, 135, 139	141	137	*xgwm 192*	135	129, 137	0	2	0
3	1	115, 121, 123	117, 119, 127	125	*xgwm 357*	109, 111, 113	115		1	0
3	1	147, 155	141, 145, 167	125	*xgwm 459*	115, 131, 133	119, 135, 147, 151, 153	155	5	1
0	0	145, 147, 149	0	0	*xgwm 614*	131, 149	151, 159	153	2	1
1	0	190, 198, 200	196	0	*xgwm 631*	190	0	0	0	0
1	2	157, 193, 207	153	167, 205,	*xgwm 698*	155, 157	167, 189, 193	195, 201	3	2
1	2	146, 158, 202	130	142, 156	*xgwm 720*	126, 128, 130	132, 142, 152	146	3	1
0	1	74, 82	0	76	*xgwm 3*					
1	0	135, 137, 149	133	0	*xgwm 111*					

3	2	195, 207, 225	199, 209, 215	145, 205,	*xgwm 174*					
0	1	205, 207, 211, 213	0	197	*xgwm 190*					
0	0	119	0	0	*xgwm 232*					
2	1	163	175, 213	195	*xgwm 261*					
2	1	139, 149	141, 143	135	*xgwm 325*					
3	2	188	174, 180, 186	170, 176	*xgwm 337*					
2	2	null	226, 242	216, 246	*xgwm 349*					
1	0	108, 110	106	0	*xgwm 458*					
4	1	131, 137	127, 129, 139, 157	151	*xgwm 539*					

إن استخدام أصناف محددة ضمن برامج التربية، إضافة لإدخال صفات ارتفاع الغلة ومقاومة الأمراض، والتأقلم مع البيئة المحيطة، هي من أهم الأسباب التي أدت لهذه الاختلافات الألليلية بين الأصناف المحلية والمحسنة. فمثلاً بعض المواقع ضمن هذه الدراسة كالموقع *Xgwm18* أظهر فقداً لبعض الألليلات من الأصناف المحسنة، وبنفس الوقت كان هناك ربح لألليلات جديدة ضمن الموقع ذاته، وتتوافق هذه النتيجة مع ماوجده Khlestkina et al., (2004).

شملت الدراسة الموقع *gwm261* المرتبط مع القطعة من الذراع الصبغي 2DS المحتوية على المورثات نصف القزمية *Rht8* والمورث *Ppd-D1* والمسؤول عن صفة عدم الاستجابة لطول النهار بحسب ماذكره Korzun at al., (1998)& Worland et al., (1998). كما لوحظ سيادة ألليل رئيسي وهو ١٦٣ وفقد للألليلين 213 ,175 من الأصناف المحلية، وإدخال للألليل 195 للأصناف المحسنة.

بشكل عام إن إدخال المورثات نصف القزمة لأصناف القمح بفترة ماسمي بالثورة الخضراء(Green revolution) قد أدى إلى زيادة المساحة الجزيئية للتنوع الوراثي كما ذكر Orford et al., (2006).

يستنتج من النتائج السابقة أنه من الممكن الفصل مابين أصناف متقاربة من القمح مختلفة الصيغة الصبغية، وذلك باستخدام عدد قليل من مؤشرات SSR لانتخاب أصناف وسلالات وإدخالها ضمن برامج التربية بحسب الهدف منها. وتبين أيضاً أن مؤشر Microsatellite هو عبارة عن تقانة سريعة وفعالة لتحديد هوية الأصناف المختلفة التي من الممكن استخدامها ضمن برامج إنتاج البذور. لقد استطاعت هذه التقانة الكشف عن مستوى مرتفع من التباينات المدروسة ضمن الأصناف المدروسة.

الفصل الرابع

المقارنة بين التقانات

المقدمة

إن زيادة الطلب على رفع إنتاج المحاصيل لسد الحاجة المتزايدة للغذاء في العالم جعل من الضروري البحث والاعتماد على وسائل وطرق جديدة في التربية أكثر قوة وفعالية من الطرق الكلاسيكية.

تعتمد هذه الطرق الجديدة على استخدام تقنيات المؤشرات الجزيئية أو DNA markers (Ganal and Röder, 2007) كطريقة أساسية مترافقة في بعض الأحيان مع المؤشرات المورفولوجية (Naserian et al., 2007) و البيوكيميائية (Hailu and Merker, 2008) ضمن برامج التربية، وذلك ابتداءً من الخطوة الأولى والتي تتضمن تقييم التنوع الوراثي مروراً بالتهجين والانتخاب ودراسة الانعزالات المختلفة، ومن ثم اعتماد الأصناف في المرحلة النهائية. وعلى الرغم من أن هذه التقنيات قد أثبتت كفاءتها وبشكل كبير في مجال تحسين النبات وتفوقت على الطرق الكلاسيكية المتبعة، كالمواصفات المورفولوجية، إلاّ أن هذه الأخيرة لاغنى عنها فهي الأساس المرئي، وهي النتيجة النهائية لتفاعل الذخيرة الوراثية التي يمتلكها النبات مع البيئة المحيطة. إن توصيف النباتات والمحاصيل المختلفة باستخدام

المؤشرات الجزيئية هو عبارة عن إجراء مكمل ومدعم للتوصيف باستخدام المؤشرات الظاهرية والفيزيولوجية كونها غير متأثرة بالظروف البيئية، وتمكن من توصيف النبات بمراحل مبكرة (Manifesto *et al*., 2001). لقد أثبتت هذه الطرق فعاليتها وجدارتها في هذه المجال، مما أدى إلى ازدياد استخدامها بشكل كبير ومطرد في العقود الثلاثة الأخيرة في دراسات التنوع الوراثي وذلك إما بشكل منفرد (White et al., 2008)، أو مترافقة مع غيرها (Pagnotta et al., 2005; Liu et al., 2006; Roy et al., 2004) وذلك ضمن هدف حفظ المخزون الوراثي، وزيادة الإنتاج لعدد كبير من المحاصيل وفي مقدمتها القمح الذي هو موضوع هذه الدراسة.

يعتبر القمح (*Triticum* L.) أحد أهم المحاصيل الغذائية الأساسية في سورية، فهو المحصول الرئيسي والذي وصل إنتاجه عام ٢٠٠٥ حوالي ٤,٧ مليون طن بمساحة مزروعة ١,٩٠٤ مليون هـ وغلة ٢,٤٥٢ طن/هـ (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، ٢٠٠٦).

تعتبر الحاجة المتزايدة لهذا المحصول من أهم الدوافع والأسباب لاستنباط أصناف قمح عالية الإنتاج ومتأقلمة، وتبدأ هذه العملية أول ما تبدأ بتقييم التنوع الوراثي ومصادر القمح الوراثية المختلفة وتحديد القرابة الوراثية فيما بينها تمهيداً لاختيار المناسب منها وإدخاله ضمن برنامج التربية المختلفة بحسب الهدف من هذا البرنامج.

يعتبر استخدام المؤشرات الجزيئية مفيداً في الكشف عن التنوع الوراثي ضمن القمح وأنواع محاصيل أخرى ذات القاعدة الوراثية الضيقة (narrow genetic base) (Soleimani et al., 2002). وأهم هذه المؤشرات تقنية RFLPs ثم تقنية RAPDs (Devos and Gale 1992; Khan et al. 2005) ، وتقنية AFLPs (Law et al., 2004) وتقنية SSR (Plashke et al., 1995; Domini et al., 1998; Stachel et al., 2000; Röder et al., 2002; Alamerew et al., 2004; Landjeva et al., 2006).

ويعتمد معيار اختيار تقنية معينة دون أخرى على عدة عوامل منها: قدرتها على الكشف عن التباين الوراثي، مدى تغطيتها للمجموعة الصبغية للنبات المدروس، درجة موثوقيتها وأخيراً حجم المجتمعات (Populations) المدروسة. فقد وُجد أن تقنية RFLPs قد أعطت مستوى منخفض من التباين الوراثي بتطبيقها على القمح كونه يحتوي على نسبة مرتفعة من قطع DNA المتكررة (Repetitive DNA)، كما تبين انخفاض كفاءة تقنية RAPDs في

الكشف عن التباين الوراثي في القمح وذلك لقدرة البادئات العشوائية على مضاعفة قطع من DNA غير متشابهة (non-homologous sequences) (Devos and Gale, 1992).

يعد استنباط أصناف وهجن محسنة تحمل مواصفات مختلفة، كالغلة المرتفعة وتحمل الإجهادات الإحيائية واللاإحيائية من أهم أهداف برامج التربية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية. وضمن هذا الإطار، يعتبر توفر بعض المعلومات حول مستوى التنوع الوراثي والقرابة الوراثية (التشابه Similarity والاختلاف Dissimilarity على المستوى الجزيئي) مفيداً في اختيار الآباء الملائمة لعمليات التهجين ضمن برامج التربية وذلك بحسب الهدف من هذه البرنامج.

إن عملية إنشاء هوية وراثية متكاملة وشاملة للطرز الوراثية المختلفة هي مهمة وطنية للحفاظ على مصادرنا الوراثية. وتعتمد على استخدام مدى واسع ما أمكن من التوصيفات المنبثقة عن علوم البيولوجيا الجزيئية المختلفة وعلوم الوراثة الكلاسيكية. وبما أن مثل هذه المعلومات قليلة نوعاً ما على المستوى الوطني، لذا كان

أهداف البحث: هو استخدام المؤشرات المورفولوجية والبيوكيميائية والجزيئية من أجل:

١. توصيف وتصنيف مجموعة من الطرز الوراثية للقمح السوري الطري والقاسي باستخدام مجموعة من البيانات المختلفة.

٢. إنشاء هوية وراثية لكل من الأصناف المدروسة للحفاظ عليها.

٣. مقارنة فعالية التقانات المختلفة لمعرفة أكثرها كفاءة انطلاقاً من عدة معايير.

الدراسة المرجعية.

يلخص الجدول(٣١) مجموعة من الدراسات السابقة التي درس من خلالها التنوع الوراثي للقمح باستخدام أكثر من تقنية مختلفة.

الجدول **(3١)**: دراسات لتقييم التنوع الوراثي للقمح من قبل عدة باحثين باستخدام طرائق مختلفة.

المرجع	طريقة التوصيف	النتائج	تفوق التقنية	الارتباط والانحدار
Figliuolo et al., 2007	جليادين DNA-SSR	انخفاض مستوى التنوع الوراثي بمرور الزمن	جليادين	
Lage et al., 2003	مورفولوجي DNA-AFLP	توافق التوصيف مع الأصل الجغرافي	لم يذكر	
Pagnotta et al., 2005	مورفولوجي DNA-EST-SSR		لم يذكر	انحدار بسيط بين الغلة والموقع DuPW254 انحدار معنوي سلبي بين وزن الحبة وعدد الحبوب وبين الموقع DuPw124 ارتباط معنوي بين ارتفاع النبات وبين الموقع DuPw254
Liu et al., 2006	مورفولوجي DNA-SSR	مستوى متقارب من التنوع الوراثي بين الآباء والأجيال الناتجة عن الانتخاب	متقارب	
Roy et al., 2004	مورفولوجي AFLP,-SSR,SAMPL		DNA	ارتباط ضعيف
Marié et al., 2004	مورفولوجي DNA-RAPD معامل الأبوة		RAPD	
Moghaddam et al., 2005	مورفولوجي DNA-AFLP		AFLP	ارتباط ضعيف ٠,٢٣
Fufa et al., 2005	مورفولوجي معلومات النسب DNA-SSR,SRAP SDS-PAGE			

النتائج.

أمكن بنتيجة التوصيف المورفولوجي والبيوكيميائي والجزيئي لمجموعة من الأصناف السورية المدروسة الحصول على :

١. معامل التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة والناتجة عن استخدام كل تقانة على حدة باستخدام معامل Dice, (1945).

٢. معامل التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة ومخطط التحليل العنقودي الناتج عن تجميع البيانات المذكورة كلها ضمن مصفوفة واحدة باستخدام المعامل السابق ذاته.

٣. معامل المسافات الوراثية بين الأصناف المدروسة والناتجة عن استخدام كل تقانة على حدة وعند تجميع البيانات كلها ضمن مصفوفة واحدة باستخدام معامل Nei, (1972):

$$D = \frac{-\ln\left[\sum X_i Y_j\right]}{\sqrt{\sum X_i Y_j}}$$

حيث:

D: معامل المسافات الوراثية

ith: الألليل i

jth: الأليل j

Xi: تكرار الألليل i

Yj: تكرار الأليل j

٤. دراسة معامل التنوع الوراثي بناءً على مخطط التحليل العنقودي الناتج عن كل تقانة على حدة إضافة لقيمة هذا المعامل الناتج عن تجميع البيانات كلها وذلك حسب معادلة: Shannon Weaver Diversity Index(1949)

$$H' = (T \times \log(T) - ((C1 \times \log C1) + (C2 \times \log C2) + \ldots + (Cn \times \log Cn))/T$$

حيث:

H’: معامل التنوع الوراثي

T: عدد الأفراد المدروسة الكلي

C1: عدد الأفراد ضمن المجموعة الأولى

C2: عدد الأفراد ضمن المجموعة الثانية

C3: عدد الأفراد ضمن المجموعة الثالثة

مع العلم أنه تم حصر المجموعات ضمن المدى من 0.5-١ على محور السينات.

٥. معامل الارتباط بين التقانات المستخدمة.

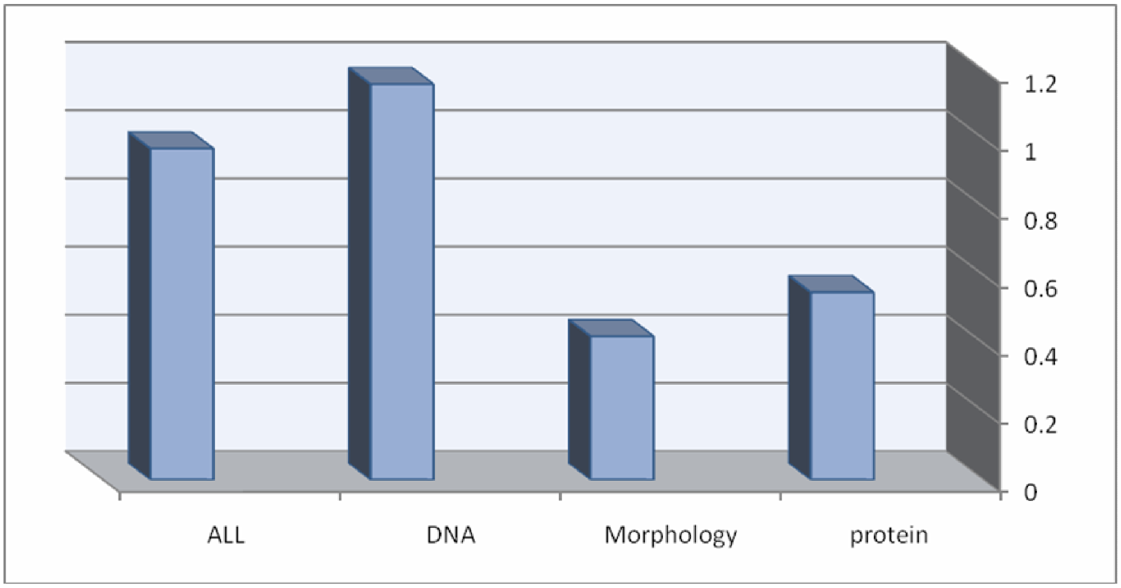
عند مقارنة قيم متوسطات معامل التشابه الوراثي باستخدام طرائق التوصيف الثلاث تبين أن أعلى قيمة وُجدت باستخدام طريقة التوصيف المورفولوجي، يليها باستخدام بروتينات التخزين، بينما كانت أقل قيمة متوسط تشابه وراثي هي الناتجة عن استخدام التوصيف الجزيئي. وكانت أطول مسافة وراثية هي تلك الناتجة عن التوصيف الجزيئي، بينما أقلها الناتجة عن التوصيف المورفولوجي جدول (٣٢).

جدول (٣٢). قيم متوسط معامل التشابه الوراثي(GS)، والانحراف المعياري للتشابه الوراثي (STD)، ومعامل التنوع الوراثي (H°) ومعامل المسافات الوراثية (GD) حسب طريقة التوصيف.

المؤشر المدروس	مورفولوجي	Gli,Glu	DNA	كافة البيانات
معامل التنوع الوراثي H °	0.421	0.55	1.160	0.971
معامل التشابه الوراثي GS	٠,٥١	0.49	0.264	0.39
معامل المسافات الوراثية GD	0.71	0.8	1.56	1
الانحراف المعياري STD	0.025	0.044	0.016	0.012

ظهر الانحراف المعياري بأقل قيمة له من خلال البيانات الجزيئية، أما أعلى قيمة فقد وُجدت عند استخدام تقانات بروتينات التخزين، وكانت قيمته متوسطة بالتوصيف المورفولوجي.

أما بالنسبة لمعامل التنوع الوراثي فقد كان بأعلى قيمة له عند استخدام التوصيف الجزيئي (1.16) بينما سجلت أدنى قيمة بالتوصيف المورفولوجي (0.42)، أما عند التوصيف البيوكيميائي فقد كانت قيمته متوسطة (0.55) بين القيمتين السابقتين (شكل٣٠).



الشكل(٣٠). قيم التنوع الوراثي الناتجة باستخدام طرائق التوصيف المختلفة.

معامل الارتباط بين طرق التوصيف المستخدمة:

حُسب معامل الارتباط اعتماداً على معامل المسافات الوراثية، وتبين أن أعلى قيمة ارتباط (0.48) كانت بين طريقتي التوصيف البيوكيميائية والجزيئية، بينما كانت الأقل (0.022-) بين البيوكيميائية والمورفولوجية، في حين بلغت بين التوصيف المورفولوجي والجزيئي 0.039 (الجدول ٣٣).

جدول(٣٣). قيم معامل الارتباط بين طرائق التوصيف المستخدمة بحسب اختبار Mantel.

طريقة التوصيف	**جزيئي**	**بيوكيميائي**	**مورفولوجي**
جزيئي	**1**		
بيوكيميائي	**0.48**	**1**	
مورفولوجي	**0.39**	**-0.022**	**1**

المناقشة:

يتضح من الجدول (٣٢) أن المعاملات الثلاثة المستخدمة لقياس العلاقات الوراثية بين الأصناف المدروسة، والتنوع الوراثي ضمنها، قد أعطت نتائج متطابقة من حيث تسلسل قيم

هذه المعاملات ضمن المؤشرات والتوصيفات المستخدمة. لقد سجلت أعلى قيم للتشابه الوراثي وللتنوع الوراثي وأقل قيمة للمسافات الوراثية(ذات الدلالة العكسية للتنوع) بلا استثناء ضمن مؤشر DNA يليها مؤشرات بروتينات التخزين، ثم المؤشرات المورفولوجية بأقل قيمة ضمن كل الدلالات الإحصائية المستخدمة. هذه النتيجة متوافقة مع كثير من الدراسات التي أجريت على القمح منها (Fufa et al., 2005; Moghaddam et al., 2005; Liu et al.,2006; Roy et al., 2006; Marié et al., 2004) ومختلفة مع ماوجده (Figliuolo et al.,2007) عندما تفوقت تقانة A-PAGE على مؤشرات SSR وأعطت مستوى أعلى من التنوع الوراثي بلغ 0.27 مقارنة بـــ 0.22 الناتج عن استخدام SSR.

أما نتائج Liu et al., (2006) فقد أظهرت مستوى متقارباً من التنوع الوراثي عند استخدام كل من المؤشرات المورفولوجية ومؤشرات SSR في تحليل طرز منتخبة من القمح.

ومن الطبيعي والمنطقي وجود ارتفاع في مستوى التنوع الوراثي الناتج عن استخدام مؤشرات DNA مقارنة مع المواصفات المورفولوجية، حيث أن الأخيرة مسؤول عنها مناطق من المجموع الصبغي قليلة ومحدودة، بينما تكشف مؤشرات DNA عن مساحات كبيرة ضمن المجموع الصبغي، وبذلك يمكن أيضاً تفسير تفوق مؤشرات DNA على بروتينات التخزين المسؤول عنها مواقع محدودة على المجموع الصبغي تم ذكرها سابقاً في بحث التوصيف البيوكيميائي.

في دراسات سابقة قيمت سلالات من emmer wheat حسب المواصفات المظهرية والمواصفات النوعية التي تتعلق بنوعية بروتينات التخزين (Damania et al., 1992; Piergiovanni et al., 1996)، تلتها دراسات تم فيها توصيف المحصول ذاته باستخدام مؤشرات DNA (Figliuolo & Perrino, 2004). إلا أن نتائج استخدام المؤشرات الجزيئية ربما تعتبر غير كافية لتعطي صورة واضحة عن نمط التنوع الوراثي المتعلق بالمواصفات الزراعية (Hodgkin et al., 2001).

تظهر بيانات الجدول (٣٢) انخفاض نسبة التنوع الناتجة عن تجميع بيانات المؤشرات المستخدمة في التوصيف كافة، وهذا مشابه لما وجده Figliuolo et al., (2007) عندما حصل على أعلى قيمة لمعامل التنوع الوراثي باستخدام مؤشر الجليادين يليه مؤشر SSR. وعند

تجميع بيانات كلا المؤشرين كانت قيمة معامل التنوع الوراثي أقل من تلك الناتجة عن استخدام كل من المؤشرين السابقين على حدى.

معامل الارتباط:

هناك أبحاث كثيرة درست العلاقات مابين مؤشرات التنوع الوراثي المختلفة في القمح استخدام فيها طرق كثيرة منها: ١) scatter plots. ٢) معامل الارتباط. ٣) معامل الانحدار. ٤) Principal coordinate plots (Weir, 1989).

وفي هذه الدراسة تبين أن قيمة معامل الارتباط الجدول(٣٣) مابين التوصيف المورفولوجي والجزيئي (0.39) أقل من القيمة التي وجدها Autrique *et al*., (1996) وهي (0.47) وذلك عندما استخدم تقنية RFLP والتوصيف المورفولوجي في تحليل أصناف من القمح القاسي، إلا أنها بنفس الوقت أعلى مما وجده كل من (Schut et al., 1997; Roldan-Ruiz et al., 2001; Beer et al., 1993; Lage et al., 2003; Moghaddam et al., 2005).

أيضاً في الشعير وعند مقارنة هذه النتائج بالتي حصل عليها Hamza et al., (2004) كانت قيمة معامل الارتباط بين التوصيف المورفولوجي والتوصيف باستخدام تقانة SSR أقل من القيمة التي حصلنا عليها (0.25).

وقد فسر Koebner et al.,(2003) الارتباط الضعيف مابين التنوع الوراثي والتنوع المورفولوجي بأن مؤشرات DNA هي مؤشرات غير مرئية وبالتالي فهي غير خاضعة لعملية الانتخاب من قبل المربي والمزارع، في حين أن المواصفات المظهرية تخضع لتأثير الانتخاب كونها مرئية. كما فسر Domini et al.,(2000) هذه الظاهرة بأن المواصفات المورفولوجية هي مواصفات منتخبة بناءً على فائدتها للإنسان في حين أن هذه السمة لاتحملها مؤشرات DNA فهي مؤشرات بحتة قادرة على إعطاء صورة أكثر حيادية عن التنوع الوراثي مقارنة بالمواصفات المورفولوجية التي تتأثر بالظروف البيئية المحيطة.

إن الارتفاع النسبي لمعامل الارتباط بين مؤشرات DNA وبروتينات التخزين (وكلتاهما مصنفتان على أنهما توصيف جزيئي) ربما يعود لاستخدام الموقع الوراثي Taglgap المسؤول عن بروتينات التخزين والمتواجد على الصبغي 1B.

وبالنتيجة فإن انخفاض قيم الارتباط بين بيانات التنوع الناتجة عن استخدام مؤشرات DNA والمؤشرات المظهرية لا يعني عدم فائدتها كبيانات ضمن برامج التربية، لأن هناك أصنافاً ذات مواصفات مظهرية متشابهة وهي في الواقع مختلفة وراثياً.

في النهاية نستنتج أنه من بين طرائق التوصيف المتبعة كان واضحاً تفوق التوصيف الجزيئي المعتمد على تحليل DNA على التوصيف المورفولوجي والبيوكيميائي، إلا أنه يفضل الاستعانة بكل الطرق المتاحة للتوصيف وذلك للحصول على صورة شاملة ومحيطة عن مستوى التنوع وللحصول على هوية وراثية دقيقة على كافة مستويات النبات الوراثية والموفولوجية والبيوكيميائية.

الفصل الخامس

التوافق الوراثي

مقدمة

يعرف التوافق الوراثي Genetic association بأنه توافق لايحصل مصادفة يتم بين صفتين أو أكثر، إحداهما على الأقل صفة وراثية. مثال: توافق صفة مورفولوجية كطول النبات وموقع وراثي معين كالموقع الوراثي *$Xwmc24_{124}$* في القمح (Roy et al.,2006)، أو مابين موقعين وراثيين، كما في الشعير (*scssr03907, EBmac0415*) (Eluch et al., 2008). ويحدث ذلك عند وجود توافق غير عشوائي للأليلات التابعة لهذين الموقعين نتيجة لقرب المسافة بينها على الصبغي ذاته، وهذا ما يسمى بالترابط الوراثي (Genetic linkage). ومؤخراً ورد مصطلح الترابط غير المتوازن (LD) Linkage Disequilibrium

ويستخدم لدراسة العلاقة بين الأليلات التابعة لموقعين وراثيين أو أكثر، ليس بالضرورة أن يكونا واقعين على الصبغي ذاته.

وتهدف الأبحاث المتعلقة بالتوافق الوراثي إلى تحديد توافق المواقع الوراثية مع الصفات المظهرية بما فيها صفة المقاومة للأمراض، فإذا ما وجد هذا التوافق فإن هناك أليلاً في موقع وراثي محدد سوف يتكرر في الفرد الحامل للصفة المظهرية. وقد انتشر هذا النوع من الدراسات في الآونة الأخيرة على الإنسان لتحديد الأمراض المتوافقة مع مواقع وراثية محددة http://en.wikipedia.org/wiki/Genetic_association.

يعود سبب ظاهرة LD إلى عدة عوامل وهي: الطفرات والانجراف الوراثي Genetic drift والتدهور بسبب التشكيلات الوراثية الجديدة (Breseghello and Sorrells, 2005). ومؤخراً. طُبق هذا الاختبار على النبات حيث أُجريت دراسات عديدة لتحديد التوافق الوراثي لصفات مورفولوجية مع المؤشرات الجزيئية ضمن محاصيل عديدة منها الأرز (Virk et al., 1996)، الشعير (Malysheva-Otto et al., 2006)، القمح (Breseghello and Sorrells, 2005) والذرة السورغمية (Hamblin et al., 2004). وتقترح هذه الأبحاث أن تحليل LD يستخدم في إنشاء الخرائط الوراثية، ويعتبر طريقة فعالة في الكشف عن المورثات أو مواقع الصفات الكمية QTL (quantitative trait loci).

تختلف طريقة رسم الخرائط الوراثية باختبار LD عن الطريقة التقليدية المعتمدة بوجود تهجينات بين أبوين متغايرين وتتميز عنها بعدة فوائد:

١. وجود مقدار أكبر من التباينات الوراثية ناتج عن استخدام مجموعة من الأفراد وليس عن أبوين إثنين.

٢. ربما تكون الخريطة الناتجة عن LD دليلاً على ارتباطات من غير الممكن الاستدلال عليها بالطريقة التقليدية لرسم الخرائط الوراثية، وذلك لاستخدام كل الانقسامات المنصفة (Meiosis) المتراكمة عبر الزمن عند كل موقع وراثي.

٣. إمكانية الربط وتحديد العلاقة بين الصفة المورفولوجية والموقع الوراثي دون الحاجة لإجراء تهجينات لإنتاج مجتمعات نباتية تتطلب سنوات.

هدف البحث:

دراسة علاقات التوافق الوراثي بين الصفات المورفولوجية المدروسة والمواقع الوراثية المنتخبة من خلال إجراء التحليل التوافقي للصفة مع المواقع الوراثية Marker-Trait Association Analysis.

طرائق البحث:

جُمعت البيانات الناتجة عن تحليل DNA للمواقع الوراثية البالغ عددها ٣٢ والمذكورة ضمن فصل التوصيف الجزيئي، مع البيانات الخاصة بالصفات المورفولوجية الثمانية المدروسة، والمذكورة ضمن فصل التوصيف المورفولوجي، وأدرجت ضمن البرنامج الإحصائي TASSEL الخاص بإجراء التحليل التوافقي وتحليل Linkage disequilibrium حيث أُجري هذا التحليل وفق طريقة General Linear Model (GLM) المطورة من قبل (Bradbury et al., 2007).

النتائج

بلغ عدد العلاقات المدروسة (٣٢ موقع وراثي X ٨ صفة مورفولوجية) ٢٥٦ علاقة. تم انتخاب علاقات الارتباط المعنوية فقط فبلغ عددها النهائي٨٣ بحسب الجدول (٣٤) ٢٢ منها ضمن صفة طول السنبلة، ٢٤ ضمن صفة طول السفا، ١٢ ضمن صفة وزن ١٠٠٠ حبة، ٨ لصفة عدد البذور في السنبلة، ٧ لصفة عدد السنيبلات الكلية، ٦ لصفة وزن البذور في السنبلة، و٣ لصفة طول النبات. أما صفة السنيبلات الفارغة فلم يظهر هناك ارتباط إلا بينها وبين موقع وراثي واحد.

جدول (٣٤): قيم معامل الارتباط بين الصفات المورفولوجية والمواقع الوراثية التي أظهرت علاقة توافق معها حسب مواقعها على الصبغي.

عدد المواقع	الصفة	الموقع الوراثي	الصبغي	درجات الحرية	مؤشر F	الاحتمالية Probability	معامل الارتباط
1		gwm160	4A	10	3.8088	**	0.72
2		gwm357	1A	9	4.4377	***	0.72
3		gwm459	6A	12	3.0751	**	0.73

4	طول السنبلة	gwm614	2A	6	6.4316	***	0.70
٥		gwm720	3A	3	8.0184	***	0.71
٦		gwm18	*1B*	12	4.739	***	0.79
٧		gwm46	*1B*	11	3.7956	**	0.73
٨		gwm408	5B	10	3.5798	**	0.71
٩		gwm577	7B	16	2.3651	*	0.74
١٠		gwm619	2B	13	2.2358	*	0.68
١١		gwm680	6B	6	6.0847	***	0.70
١٢		taglgap	1B	10	4.2274	***	0.73
١٣		gwm3	*3D*	3	25.8678	***	0.80
١٤		gwm111	7D	4	18.7706	***	0.80
١٥		gwm174	5D	8	9.3153	***	0.81
١٦		gwm190	5D	5	14.3484	***	0.79
١٧		gwm232	1D	2	36.9387	***	0.79
١٨		gwm261	2D	4	17.5166	***	0.79
١٩		gwm325	6D	5	14.585	***	0.80
٢٠		gwm337	1D	6	11.5766	***	0.80
٢١		gwm458	1D	3	24.0468	***	0.79
٢٢	طول السنبلة	gwm539	2D	8	8.7359	***	0.80
1	طول السفا	gwm160	4A	10	9.8863	***	0.86
2		gwm357	1A	9	12.398	***	0.86
3		gwm459	6A	12	3.3393	**	0.75
4		gwm614	2A	6	5.6457	***	0.67
5		gwm631	7A	3	11.4315	***	0.67
6		gwm720	3A	8	7.0153	***	0.77
7		gwm18	*1B*	12	10.7268	***	0.89
8		gwm46	*1B*	11	3.7269	**	0.73
9		gwm120	2B	11	5.8951	***	0.81
10		gwm408	5B	10	10.192	***	0.86
11		gwm577	7B	16	2.8257	**	0.77
12		gwm619	2B	13	3.5888	**	0.77

13		gwm680	6B	6	4.4633	**	0.64
14		taglgap	1B	10	7.9035	***	0.83
15		gwm3	3D	3	40.355	***	0.86
16		gwm111	7D	4	29.6083	***	0.86
17		gwm174	5D	8	15.408	***	0.87
18		gwm190	5D	5	23.0579	***	0.86
19		gwm232	1D	2	58.454	***	0.85
20		gwm261	2D	4	27.0275	***	0.85
21		gwm325	6D	5	22.0666	***	0.85
22		gwm337	1D	6	18.2663	***	0.86
23		gwm458	1D	3	38.9946	***	0.85
24		gwm539	2D	8	17.0213	***	0.88
1		gwm95	2A	6	10.8749	***	0.79
2	وزن ١٠٠٠ حبة	gwm357	1A	9	4.5507	***	0.72
3		gwm459	6A	12	2.6078	*	0.70
4		gwm720	3A	8	4.7403	***	0.71
5		gwm18	1B	12	5.8503	***	0.82
6		gwm408	5B	10	2.5951	*	0.65
7		gwm577	7B	16	3.9176	***	0.82
8		gwm619	2B	13	2.7441	**	0.72
9	وزن ١٠٠٠ حبة	gwmtag	1B	6	2.7535	***	0.80
10		gwm174	5D	8	3.5178	**	0.65
11		gwm325	6D	5	6.743	***	0.67
12		gwm539	2D	8	4.4159	***	0.69
1	عدد البذور/سنبلة	gwm95	2A	6	5.789	***	0.68
2		gwm459	6A	12	3.3486	**	0.75
3		gwm18	1B	12	2.3117	*	0.66
4		gwm46	1B	11	4.0314	***	0.74
5		gwm120	2B	11	3.8588	**	0.74
6		gwm408	5B	10	3.3235	**	0.70
7		gwm577	7B	16	2.7131	**	0.76

8		gwm619	2B	13	5.1215	***	0.82
1	السنيبلات الكلية	gwm95	2A	6	5.1354	***	0.66
2		gwm192	4A, 4B, 4D	2	16.5849	***	0.65
3		gwm459	6A	12	3.0796	**	0.73
4		gwm720	3A	8	3.773	**	0.67
5		gwm120	2B	11	2.6995	*	0.68
6		gwm408	5B	10	2.7176	*	0.66
7		gwmtag	1B	10	3.0716	**	0.67
1	وزن البذور/السنبلة	gwm95	2A	6	6.1788	***	0.69
2		gwm698	7A	9	3.2944	**	0.68
3		gwm120	2B	11	3.1773	**	0.71
4		gwm408	5B	10	2.6909	*	0.66
5		gwm577	7B	16	3.4212	**	0.80
6		gwm619	2B	13	3.1601	**	0.74
1	طول النبات	gwm459	6A	12	3.3938	**	0.75
2		gwm46	1B	11	2.9908	**	0.69
3		gwm408	5B	10	3.0182	**	0.68
4		gwm261	2DS	4	2.5678	*	0.44
1	السنيبلات الفارغة	gwm408	5B	10	2.49	*	0.64

***الارتباط معنوي عند مستوى المعنوية $P<0.001$

** الارتباط معنوي عند مستوى معنوية $P< 0.01$

* الارتباط معنوي عند مستوى معنوية $P< 0.05$

١. صفة طول السنابل:

من خلال التدقيق بالجدول (٣٤) أظهرت النتائج وجود 2٢ موقعاً متوافقاً مع هذه الصفة، ١٠ منها على المجموعة الصبغية D و٧ على المجموعة الصبغية B و٥ على المجموعة الصبغية A. كما لوحظ أن أعلى قيم معامل الارتباط وُجدت بين هذه الصفة وبين المواقع المتواجدة على المجموعة الصبغية D إذ تراوحت من 0.81 (وبمعنوية مرتفعة جداً <0.0001) بينها وبين الموقع gwm174 الواقع على المجموعة الصبغية D، إلى 0.68 بين هذه الصفة وبين الموقع gwm619 الواقع على المجموعة الصبغية B.

٢. صفة طول السفا:

كان هناك ٢٤ موقعاً وراثياً متوافقاً مع هذه الصفة، وهو عدد كبير مقارنة بالصفات الأخرى المدروسة. سجلت أعلى قيمة لمعامل الارتباط (0.89) بين هذه الصفة والموقع gwm18 وبمعنوية عالية جداً ($P< 0.0001$)، أما أقل قيمة (0.64) فقد كانت مع الموقع gwm680 وبمعنوية ($P< 0.01$). ويظهر الجدول (٣٤) أن أكبر عدد من المواقع التي أظهرت توافقية مع هذه الصفة كانت موجودة على المجموعة الصبغية D (١٠ مواقع من أصل ٢٤) يليها المجموعة الصبغية B(٨ مواقع) ثم المجموعة الصبغية A (٦ مواقع).

٣. وزن ١٠٠٠ حبة:

أظهر ١٢ موقعاً وراثياً من المواقع المدروسة توافقاً مع صفة وزن ١٠٠٠ حبة، ووجد معظم هذه المواقع على المجموعة الصبغية B (٥ مواقع) يليها المجموعة الصبغية A (٤ مواقع) ثم المجموعة الصبغية D (٣ مواقع)، وتراوح معامل الارتباط بين المواقع الوراثية وهذه الصفة من 0.65 مع الموقع gwm408 (المجموعة الصبغية B) والموقع gwm174 (المجموعة الصبغية D) إلى 0.82 مع الموقعين gwm18 و gwm577 وكلاهما يقعان على المجموعة الصبغية B.

٤. عدد البذور/السنبلة:

لم تظهر أية حالة من التوافق المعنوي بين هذه الصفة وبين المواقع الوراثية التابعة المجموعة الصبغية D بينما وجدت معظم المواقع(٦ من ٨)، والتي أظهرت علاقة توافق مع هذه الصفة، على المجموعة الصبغية B، بينما كان الموقعان المتبقيان تابعين للمجموعة الصبغية A (gwm95 و gwm459). سجلت أعلى قيمة لمعامل الارتباط بين هذه الصفة وبين الموقع الوراثيgwm619 الواقع على المجموعة الصبغية B وبلغت 0.82 وبمعنوية مرتفعة جداً، بينما كانت أدناها مع الموقع gwm18 وبلغت 0.66.

٥. عدد السنيبلات الكلية:

لم يظهر أي توافق معنوي بين هذه الصفة وبين المواقع الوراثية التابعة المجموعة الصبغية D، بينما كانت أغلب علاقات التوافق المعنوية واقعة على المجموعة الصبغية A وبلغ عددها

٤ مواقع من أصل ٧، أما المواقع الثلاث المتبقية فكانت على المجموعة الصبغية B. تراوحت قيمة معامل الارتباط من 0.65 مع الموقع gwm192 إلى 0.73 مع الموقع gwm459.

٦. وزن البذور في السنبلة:

بلغ عدد المواقع الوراثية المتوافقة مع هذه الصفة والتابعة للمجموعة الصبغية B ٤ مواقع من أصل ٦ وهي gwm120، gwm408، gwm57، gwm619 . أما الموقعين الباقيين فكانا تابعين للمجموعة الصبغية A وهما gwm95 و gwm698. تراوحت قيم معامل الارتباط من 0.68 مع الموقع gwm698 إلى 0.8 مع الموقع gwm577 ولم تلاحظ أي علاقة توافق وراثي مع المواقع التابعة للمجموعة الصبغية D .

٧. طول النبات:

بلغ عدد المواقع الوراثية المتوافقة مع هذه الصفة ثلاثة مواقع اثنان منها على المجموعة الصبغية B وهما gwm46 وgwm408 وثالث تابع للمجموعة الصبغية A، أما أعلى قيمة لمعامل الارتباط فقد سُجلت بين هذه الصفة وبين الموقع gwm459 وبلغت 0.75. جدير بالذكر أن الموقع الوراثي gwm261 والمعروف أنه مرتبط بصفة طول النبات حسب Clayshulte et al.,(2007) إلا أنه لم تظهر علاقة ارتباط قوية بينه وبين هذه الصفة في دراستنا، وبلغت قيمة معامل الارتباط 0.44 (الجدول ٣٤).

٨. السنيبلات الفارغة:

أظهرت هذه الصفة أقل قدر من علاقات التوافق مقارنة بالصفات الأخرى. وتبين وجود موقع وراثي واحد متوافق معها على المجموعة الصبغية B وهو gwm408، وبلغت قيمة معامل الارتباط بينه وبين هذه الصفة 0.64.

لقد أظهرت نتائج العديد من الأبحاث السابقة وجود مورثات تتحكم بصفات معينة مرتبطة ببعض المواقع الوراثية المدروسة ضمن هذا البحث ولخصت قي الجدول (٣٥).

جدول (٣٥): الصفات التي تم تسجيل ارتباطها من قبل الباحثين ببعض المواقع الوراثية المدروسة.

تسلسل	الموقع الوراثي(Locus)	الصفة المرتبط بها	المرجع
1	*Xgwm*160	الغلة، مقاوم للبياض الدقيقي	Jakobson et al., 2006
2	*Xgwm*192	الغلة	Schmidt *et al*., 2004
3	*Xgwm* 698	مقاوم Eye Spot	Huguet *et al*., 2001
4	*Xgwm18*	مقاوم للرقاد	Grain Gene
٥	*Xgwm*120	مقاوم لـــ Stripe Rust	St Amand *et al*., 2005
٦	*Xtaglgap*	Glu, Gli	Devos *et al*., 1995
٧	*Xgwm*111	مقاوم للمن الروسي	Liu at al., 2002
٨	*Xgwm* 261	قصر النبات	Clayshulte et al., 2007
٩	*Xgwm* 337	التفحم اللوائي	Kumar et al., 2007
١٠	*Xgwm* 458	بياض دقيقي	Miranda,2006
١١	*Xgwm* 539	صدأ أصفر	http://ses.library.usyd.edu.au/bitstream/2123/3407/1/P146.pdf

المناقشة

تراوح عدد المواقع المتوافقة مع الصفات المدروسة من موقع واحد مرتبط مع صفة عدد السنيبلات الفارغة إلى 24 موقع وراثي مرتبط مع صفة طول السفا. تتشابه هذه النتيجة مع النتائج التي حصل عليها Roy et al., (2006) عند دراسة مجموعة من أصناف القمح في الهند حيث وجد أنه من بين ٢٠ موقع SSR ظهر توافق مابين ٨ مواقع وراثية وبين صفة طول السنبلة، ومابين ١٧ موقعاً وبين صفة عدد السنيبلات في السنبلة، بينما كانت صفة عدد الحبوب في السنبلة متوافقة مع ١٥ موقعاً، أما الغلة الحبية فقد أظهرت توافقاً مع ١٩ موقع SSR، في حين توافقت صفة وزن ١٠٠٠ حبة مع ١٢ موقع AFLP.

ويتبين من الجدول (٣٥) وجود أكثر من موقع مسؤول ومرتبط مع الصفات المدروسة ويعود ذلك لكون هذه الصفات كمية وليست نوعية، أي يتحكم بها عدد من المورثات وليس مورث واحد (عن معلا وحربا، ٢٠٠٥) مما يدل على وجود الأثر التراكمي للمورثات المختلفة في ظهور الصفات المدروسة. وعلى سبيل المثال إن صفة وزن ١٠٠٠ حبة قد أظهرت ترابطاً وتوافقاً معنوياً مع ١٢ موقعاً وراثياً. وعند مقارنة بيانات الجدولين (٣٤ و٣٥) لوحظ وجود بعض المواقع الوراثية المشتركة بين البحث الحالي وأبحاث أخرى. لقد أظهرت هذه المواقع ارتباطاً بالصفات المدروسة في دراستنا ووردت نفسها في أبحاث سابقة، وأظهرت توافقاً وراثياً مع صفات أخرى. فمثلاً توافق الموقع الوراثي xgwm 408 ضمن هذه الدراسة مع جميع الصفات المدروسة بلا استثناء (وهي من مكونات الغلة)، أما في دراسة سابقة فقد توافق الموقع ذاته مع صفة المقاومة لمرض الذبول بحسب نتائج Lin et al., (2006)، ومن الممكن تفسير ذلك بوجود ظاهرة التداخل الوظيفي للمورثات (Pleiotropic genes) وهي المورثات التي تكون مسؤولة عن أكثر من صفة مورفولوجية غير مرتبطة مع بعضها البعض *http://medical-dictionary.thefreedictionary.com.*

وبالتدقيق في الجدول (٣٥) يلاحظ أن المواقع الموثقة كانت مرتبطة ومسؤولة عن نوعين من الصفات: صفة الغلة، وصفة المقاومة للآفات المختلفة (عدا المواقع *Taglgap,* xgwm 18) التي تتميز بآلية توريث معقدة. أي أنه ظهرت لدينا مواقع وراثية معينة متوافقة مع بعض الصفات المورفولوجية المدروسة وثقت في دراسات سابقة على أنها متوافقة مع صفات مورفولوجية مغايرة للصفات التي درسناها، كالموقع الوراثي gwm698 الذي ظهر في دراستنا أنه متوافق مع صفة وزن البذور في السنبلة، بينما وُجد في دراسة سابقة قام بها Huguet et al., (2001) أنه مرتبط مع صفة المقاومة لمرض Eye spot. هذه النتيجة مشابهة لما وجده Eleuch et al., (2006) عند دراسة توافق الموقع الوراثي (SCSSR03907) والموجود على الصبغي 5H في الشعير مع صفة تحمل الملوحة لبعض أصناف الشعير، حيث أشير في نفس البحث أن نتائجه كانت غير متفقة مع نتائج سابقة لذات الموقع حيث وجد(Backes et al., (1995 أنه مسؤول عن صفة طول النبات وتحمل الرقاد.

كما أن الموقع *taglgap* والذي أظهر توافقاً وراثياً معنوياً مع صفات طول السنبلة طول السفا، وزن ١٠٠٠ حبة، وعدد السنيبلات الكلية، معروف مسبقاً أنه مسؤول عن صفة

بروتينات التخزين (*gli, glu*) في القمح بحسب Devos et al., (1995)، ويفسر ذلك أيضاً لوجود ظاهرة Pleiotropic genes.

أظهرت هذه الدراسة وجود أكثر من موقع مسؤول عن توريث صفة معينة، وهذه المواقع لاتقع بالضرورة على صبغي واحد، كالمواقع gwm111، gwm18، gwm614 المتواجدة على الصبغيات 2A, 1B,7D على الترتيب. لقد أظهرت هذه المواقع توافقاً مع صفة طول السنبلة رغم توضعها على صبغيات مختلفة، وهذا متفق مع ما وجده Vasu et al., (2000) حيث أشار لوجود أكثر من موقع مسؤول عن صفة مقاومة التفحم اللوائي ضمن المجموعة الصبغية A وعلى الصبغيات ٢، ٣،، ٤، ٥ و ٦ مما يدل على وجود عدة مواقع وراثية لصفات كمية (QTL) موجودة ضمن خلفيات وراثية مختلفة (Different genetic background).

ويمكن تفسير هذه الظاهرة اعتماداً على فعالية المورثات، فهناك المورث رئيسي وآخر ثانوي يؤثران معاً في ظهور نفس الصفة. فمثلا يتحكم المورث Qssmsub-3BL الواقع على الصبغي 3B في القمح بصفة قساوة الساق بنسبة ٧٦% وذلك حسب ماذكر Lanning et al., 2006 وفي دراسة لاحقة وجد أن هناك موقعاً آخر ثانوياً له نفس الوظيفة وهي المساهمة بإظهار صفة قساوة الساق مما يعطيها خاصية الحماية من حشرة ذبابة الساق المنشارية وهو الواقع على الصبغي 3D.

ويتضح من الجدول (٣٤) وجود بعض المواقع لم يسجل مسبقاً ارتباطها مع أية مورث أو صفة مظهرية، كالموقع xgwm 459 الذي أظهر توافقاً مع صفات طول السنبلة، طول السفا، وزن ١٠٠٠ حبة، عدد السنيبلات الكلية وطول النبات.

أما بالنسبة لصفة طول النبات فيتحكم بها أكثر من مورث وتتواجد على عدة صبغيات:

١. المورث *Rht7* الموجود على الصبغي 2A Worland et al.,(1980)

٢. المورث *Rht8* الموجود على الصبغي 2D Worland et al., (1986)

٣. المورث *Rht12* الموجود على الصبغي 5A Sutka et al., (1987)

٤. المورث *Rht9* الموجود على الصبغي *7B* (1990) ,.Worland et al

وفي دراستنا كان الارتباط بين الموقع الوراثي gwm 261 (على الصبغي 2DS) وبين صفة طول النبات ضعيفاً (٠,٤٤)، وربما يعزى السبب لكون لتأثير الأكبر على هذه الصفة يعود للمورثات الأخرى الواقعة على مناطق أخرى من المجموع الصبغي. ويعتبر المورث *Rht8* المتواجد على الصبغي 2DS من المورثات المسؤولة عن صفة طول النبات والحساسة لحمض الجبرليك(Zheleva et al., 2006) والتي يتثبط عملها بتأثير الحرارة المرتفعة والجفاف، مما يجعل ذلك احتمالاً آخر لتفسير علاقة الارتباط المنخفضة بين الموقع المذكور وصفة طول النبات .

على الرغم من أن المجموعة المدروسة تضم أصنافاً محسنة ناتجة عن برامج تربية إلى أن هذا التحليل قد أعطى نتائج جيدة، من حيث إظهار علاقات الترابط والتوافق بين المواقع الوراثية والصفات المدروسة، ويعود هذا لأن الصفات المدروسة هي صفات كمية وذات معامل توريث منخفض، كصفة الغلة، ولكون الأصناف المدروسة ذات ثباتية وراثية بالنسبة لهذه الصفة، ومتأقلمة مع الظروف البيئية المحلية، وتكون فعالية الانتخاب الجزيئي MAS(Marker assisted selection) قصوى عندما تكون الصفات المدروسة ذات معامل توريث منخفض مما يتيح للمؤشر الوراثي المرافق الكشف عن مستوى جيد من التغايرات الوراثية كما ذكر Lande and Thompson, (1990).

وبالنتيجة فإن مجموعة الأصناف المدروسة تميزت بمستوى عال من التباين مما يؤهلها وبشكل قوي لإجراء هذا التحليل، وبالتالي لزيادة نسبة نجاحه ومصداقيتة (Breseghello and Sorrells, 2005).

ويجب الاستفادة من هذه المعلومات من أجل استخدام المؤشرات المرتبطة بالصفات المدروسة ضمن برامج التربية بهدف تسريعها واختصار الزمن اللازم لظهور الصفة مورفولوجياً، حيث أنه وباستخدام المؤشرات المساعدة للانتخاب يمكن إثبات وجود الصفة المرغوبة في المراحل الأولى للنبات وبالتالي إهمال السلالات التي لاتحملها.

الاستنتاجات

- أثرت عمليات التربية بشكل واضح على انخفاض نسبة التنوع في الأصناف المحسنة مقارنةً بالأصناف المحلية.
- كان تأثير المجموعة الصبغية D أيجابياً في رفع نسبة التنوع حيث كانت الأصناف الطرية تحمل مستوى أعلى من التنوع مقارنة بالأصناف القاسية.
- كانت نسبة الطفرات في المجموعة الصبغية B أعلى منها في المجموعتين الصبغيتين A و D مما أدى لارتفاع نسبة التنوع الوراثي فيها.
- احتوت مجموعة الأصناف المدروسة على مستوى مرتفع من التنوع وأمكن الفصل مابين الأفراد المدروسة باستخدام عدد قليل من المواقع الوراثية.
- توزعت الأصناف ضمن مجموعات بحسب الأصل الوراثي لها.
- وجود توافق وراثي وترابط بين الصفات المورفولوجية المدروسة وبين المواقع الوراثية وبنسب متفاوتة.
- كان أثر الانتخاب لصفة بروتينات التخزين قوياً مما أدى لحدوث نسبة من التماثل الوراثي انعكست على انخفاض نسبة التنوع ضمن المواقع الوراثية الخاصة ببروتينات التخزين مقارنة بالتنوع ضمن مواقع SSR المدروسة.
- إن الاختلافات الوراثية التي طرأت على المجموعة الصبغية للقمح أثناء عملية التطور قد تمت بشكل مطرد ومستمر ضمن ٤٧% من المواقع المدروسة، بينما في بقية المواقع والبالغة نسبتها ٥٢% تميزت بوجود قفزات أليلية كبيرة بلغت في بعض المواقع ٢٦ أليلاً مما يدل على تعرض هذه المواقع لمسببات طفرات مستمرة أدت لحدوث نسبة متكررة من الطفرات (Strand slippage).

التوصيات

١. اعتماد طريقة التوصيف باستخدام مؤشرات SSR-DNA كطريقة رئيسية في تحديد الهوية الوراثية للأصول الوراثية للقمح لعدم تأثرها بالبيئة وفعاليتها في الكشف عن التباينات الوراثية حتى بين الطرز الوراثية ذات القاعدة الوراثية الضيقة.

٢. استخدام كلتا طريقتي الرحلان (SDS-PAGE، A-PAGE) للحصول على فكرة شاملة عن تغايرات بروتينات التخزين ضمن الأصناف.

٣. تعتبر صفة طول السنابل من الصفات المورفولوجية ذات التأثير المعنوي بالغلة وذات معامل توريث مرتفع، ويمكن اعتمادها كمادة للانتخاب ضمن برامج التربية.

٤. نظراً لاحتواء الأصناف البلدية على نسبة أعلى من التنوع الوراثي مقارنة بالأصناف المحسنة يوصى بحفظ هذه الأصناف ضمن البنك الوراثي مع توثيقها وإكثارها سنوياً.

٥. استخدام المواقع الوراثية التي أظهرت ارتباطاً بالمواصفات المورفولوجية المدروسة(صفات محددة للغلة) في تطوير فعالية برنامج تربية النبات، من خلال الانتخاب غير المباشر، باستخدام المؤشرات الجزيئية المرتبطة بمواصفات مهمة بسيطة أو كمية، إضافة لأنها غير متأثرة بالبيئة وممكن اعتمادها في مرحلة مبكرة من النمو ولا حاجة للانتظار حتى يكتمل نمو النبات.

المراجع العربية

١. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. ٢٠٠٦. منشورات وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي. دائرة الإحصاء.

٢. معلا، محمد يحيى؛ هناء حلواني. ١٩٨٧. إمكانية الانتخاب للصفات الإنتاجية والنوعية معاً عند بعض أصناف القمح المحلية. أسبوع العلم السابع والعشرون- دمشق، سوريا.

٣. معلا، محمد يحيى؛ نزار حربا. ٢٠٠٥. تربية المحاصيل الحقلية، مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

٤. معلا، محمد يحيى؛ نزار حربا. ٢٠٠٧. دراسة أهم الخصائص المورفولوجية والإنتاجية لمجموعة من هجن القمح الطري *Triticum aestivum* L. مجلة جامعة تشرين، العلوم البيولوجية، المجلد ٢٩، العدد ١:١٣-٢٦.

٥. مير علي، نزار؛ عرابي، محمد عماد الدين؛ وبسام الصفدي١٩٩٥. تقويم قوة العجين وعلاقتها ببروتينات التخزين المفصولة باستخدام الرحلان الكهربائي بغية تمييز الأصناف المحلية والمدخلة من القمح. منشورات هيئة الطاقة الذرية السورية.

References

Adams, MD., Kelley J.M., Gocayne J.D., Dubrick M., Polymeropoulos M.H., Xiao H., Merril C.R., Wu A., Olde b., Moreno R.F., Kerlavage A.R., McCombie W.R., Veneter J.C. 1991. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. Science. 252: 1651-1656.

Ahn, S.N., Kwon S.J., Yang C.I., Hong H.C., Kim Y.K., Suh J.P., Huang H.G., Choi H.C. and Moon H.P. 2000. Diversity analysis of Korea bread rice cultivars. In: International plant and animal genome VIII Conference, January 9th-12th, San Diego, CA. P 499. (Abstract)

Akhtar, M.Z., Khan K., Ahmad K., Alam M. 2001. Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties for their potential grain yield under the agroecological conditions. *Biol. Sci.* 1: 568-570.

Al khanjari, S., Hammer, K., Buerkert, A., Röder, M.S. 2007. Molecular diversity of Omani wheat revealed by microsatellite: I. Tetraploid landraces. *Genetic resources and Crop Evolution*. 54: 1291-1300.

Alamerew, S., Cheboter, S., Huang, X., Röder, M.S., Börner, A. 2004. Genetic diversity in Ethiopean hexaploid and Tetraploid wheat germplasm assessed by microsatelitte markers. *Genetic resources and Crop Evolution*. 51: 559-567.

Amuruganathan, E. and Earle E.D. 1991. Nuclear DNA content of some plants species. *Plant Mol. Biol. Rep*. 9: 208-218.

Anderson, J.A, Stack R.W, Liu S, Waldron BL, Fjeld A.D, Coyne C, Moreno-Sevilla B, Fetch J.M, Song Q.L, Organ P.B, Frohberg R.C. 2001. DNA markers for fusarium head blight resistance QTLs in two wheat populations. *Theor Appl Genet*. 102: 1164-1168.

Andolfatto, P. 2001. Adaptive hitchhiking effects on chromosome variability. Curr Opin Genet Dev. 11: 635-641

Armour, J.A.L, Alegre S.A, Miles S, Williams L.J, Badge R.M. 1999. Minisatellites and mutation processes in tandemly repetitive DNA. In:Goldstein DB, Schlotterer C (eds) Microsatellites: evolution and applications. Oxford University Press, Oxford. pp. 24-33.

Autran, J.C., Lew E.J.L., Nimmo C.C., and Kasarda D.D. 1979. Nterminal amino sequencing of prolamins from wheat and related species.Nature. 282: 527-529.

Autrique, E., Nachit M.M., Monneveux P., Tanksley S.D., Sorrells M.E. 1996. Genetic diversity in durum wheat based on RFLPs morphophysiological traits, and coefficient of parentage. *Crop Science*. 36: 735-742.

Ayana, A., Bekele, E. 1998. Geographical patterns of morphological variation in sorghum *(Sorghum bicolor* (L.) Moench) germplasm from Ethiopia and Eriteria: qualitative characters. Heredities. 129: 195-205.

Bachtrog. D, Weiss S., Zangerl B., Brem G. and Schlotterer C. 1999. Distribution of dinucleotide microsatellites in the Drosophila melanogaster genome. *Molecular Biology and Evolution*.16: 602-610.

Backes, G., Graner A., Foroughi-Wehr B., Fischbeck G., Wenzel G. and Jahoor A. 1995. Localization of quantitative trait loci (QTL) for agronomic important characters by the use of a RFLP map in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet*. 90: 294-302.

Baenziger, P. S., Shelton, D.R., Shipman M.J. And Graybosch. 2001. Breeding For End-Use Quality: Reflection On The Nebraska Experience. *Euphytica* 119: 95-100.

Barrett B.A. and Kidwell K.K. 1998. Comparison of AFLP and Pedigree-Based Genetic Diversity Assessment Methods Using Wheat Cultivars from the Pacific Northwest. *Crop Science*. 38: 1271-1278.

Beccari. 1745. *De Frumento. De Bononiensi Scientiarum Et Atrium Instituto Ateque Academia Commentaii*, , Ii. Part I.,pp. 122-127.

Beckwith, A.C., Nielsen H.C., Wall J.S. and Huebner F.R. 1966. Isolation and haracterisation of a high-molecular-weight protein from wheat gliadin. *Cereal Chem*. 43: 14-28.

Beer S.C., Goffreda J., Phillips T.D., Murphy J.P., Sorrells M.E., 1993. Assessment of genetic variations in *Avena sterilis* using morphological traits, isozymes and RFLPs. *Crop Science*. 38: 1386-1393.

Bell, C.J., Ecker J.R. 1994. Assignment of 30 microsatellite loci to the linkage map of *Arabidopsis Genomics*. 19: 137-144.

Bennett, M.D. and J.B. Smith. 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B. 274: 227-274.

Bietz, J.A. and Simpson D.G. 1992. Electrophoresis and chromatography of wheat proteins: Available methods, and procedures for statistical evaluation of the data. J. Chromatogr. 624: 53-80.

Bietz, J.A. And Wall J.S. 1972. Wheat Gluten Subunits: Molecular Weights Determined By Sodium Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Cereal Chem*. 49: 416-430.

Bietz, J.A. and Wall J.S. 1973. Isolation and characterization of gliadin-like subunits from glutenins. *Cereal Chem*. 50: 537-547.

Bietz, J.A., Shepherd K.W. and Wall J.S. 1975. Single-kernel analysis of glutenin: Use in wheat genetics and breeding. Cereal Chem. 52: 513-532.

Bohn, M., Utz H.F. and Melchinger A.E. 1999. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs, and SSRs and their use for predicting progeny variance. *Crop Sci.* 39: 228-237.

Börner, A., Chebotar S. and Korzun V. 2000. Molecular characterization of the genetic integrity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm after long term maintenance. *Theor. Appl. Genet*. 100: 494–497.

Botstein D., White R.L., Skolnick M. and Davis R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *AM. J. Hum. Genet*. 32: 314-331.

Bradbury P.J., Zhang Z., Kroon D.E., Casstevens T.M., Ramdoss Y., Buckler E.S. 2007. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*. 23: 2633-2635.

Branlard, G. and Dardevet M. 1985. Diversity of grain protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular subunits of glutenin and flour quality characteristics. *J. Cereal Sci.* 3: 345-354.

Branlard, G., Autran J.C. and Monneveux P. 1989. High molecular weight glutenin subunits in durum wheat (*Triticum durum*). *Theor.Appl. Genet*. 78: 353-358.

Breseghello F., and Sorrells M.E. 2005. Association Mapping of Kernel Size and Milling Quality in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars . *Genetics* 172: 1165-1177.

Brown, S. M., Hopkins M.S., Mitchel S.E., Wang T.Y., Kresovich S., Duncan R.R., Senior M.L. and Candelas F.G. 1996. Multiple methods for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Theor. Appl. Genet*. 93: 190-198.

Bushuk, W. 1998. Wheat breeding for end-product use. Euphytica a. 100: 137-145.

Bushuk, W. And Zillman R.R. 1978. Wheat Cultivar Identification By Gliadin Electro-Phoregrams. I. Apparatus, Method, And Nomenclature. *Canadian Journal Of Plant Science*. 58: 505–515.

Caetano-Anolles, G., Basam B.J. and Gresshoff P.M. 1991. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Bio/Technology*. 9: 553-557.

Casas, A.M., Igartua E., Vallés M.P. and Molina-Cano J.L. 1998. Genetic diversity of barley cultivars grown in Spain, estimated by RFLP, similarity and coancestry coefficients. *Plant Breed*. 117: 429-435.

Chambers, G.K. and MacAvoy E.S. 2000. Microsatellites: consensus and controversy. Comparative Biochem. *Physiol*. (Part B). 126: 455–476.

Chen H.B., Martin J.M., Lavin M. and Talbert L.E. 1994. Genetic diversity in hard red spring wheat based on sequence-tagged-site PCR markers. *Crop Sci*. 34: 1269-1632.

Chen, C.H. and Bushuk W. 1970. Nature of proteins in triticale and its parental species. I. Solubility characteristics and amino acid composition of endosperm proteins. *Can. J. Plant Sci.* 50: 9-14.

Chen, Q., Conner R.L., Jia Li X., Guo H., Zhang B., Graf Y., Laroche R.J., Liu A., Chu G. 2003. Molecular characterization of a wheat – *Thinopyrum ponticum* partial amphiploid and its derivatives for resistance to leaf rust. *Genome*. 46: 906-913.

Chenyang, H., Lafen W., Xueyong Z., Guangxia Y., Yushen D., Jizeng J., Xu L., Xunwu S., Sancai L., Yongsheng C. 2006. Genetic diversity in Chinese modern wheat varieties revealed by microsatellite markers. Science in China: series C Life Sciences. 49: 218-226.

Chowdhry, A.R., Shah A.M., Ali L., Bashir M. 1986. Path coefficient analysis of yield and yield components in wheat. *Pak. J. Agric. Res*. 7: 71-75.

Chowdhry, M.A., Ali M., Subhani G.M. and Khaliq I. 2000. Path coefficient analysis for water use efficiency, evapo-transpiration efficiency and some yield related traits in wheat. Pak. *J. Biol. Sci*. 3(2): 313-317.

Christiansen, M.J., Andersen S.B. and Ortiz R. 2002. Diversity changes in an intensively bred wheat germplasm during the 20th century. *Mol. Breed*. 9: 1-11.

Ciaffi, M., Dominici L. and Lafiandra D. 1998. High molecular weight glutenin subunit variation in wild and cultivated einkorn wheats. *Plant Syst. Evol*. 209: 123-137.

Ciaffi, M., Lafiandra, D., Porceddu, E. and Benedettelli, S. 1993. Storageprotein variation in wild emmer wheat (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) from Jordan and Turkey. I. Electrophoretic characterization of genotypes. *Theor. Appl. Genet*. 86: 474-480.

Clayshulte S.R., Haley S.D., Byrne P.F. and Shan X. 2007. Trait Associations at the *Xgwm 261* and *Rht-B1* Loci in Two Winter Wheat Recombinant Inbred Line Populations. Crop Science. 47: 2346-2355.

Cook J.P., Wichman D.M., Martin J.M., Bruckner P.L. and Talbet L.E. 2004. Identification of microsatellite markers associated with a stem solidness locus in wheat. *Crop Science*. 44: 1397-1402**.**

Cuadrado, A., Schwarzacher T. 1998. The chromosomal organization of simple sequence repeats in wheat and rye genomes. *Chromosoma*. 107: 587-594.

Damania, A.B., Hakim S. and Moualla M.Y. 1992. Evaluation of variation in *Triticum dicoccum* for wheat improvement in stress environments. Hereditas. 116: 163–166.

Dellaporta, SL., Wood J., and Hicks J.B. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. Plant Molecular Biology Reporter. 1: 19-21.

Devos, K. M., Atkinson M.D., Chinoy C.N., Liu C.J. and Gale M.D. 1992. RFLP-based genetic map of the homoelogous group 3 chromosomes of wheat and rye. *Theor. Appl. Genet*. 83: 931-939.

Devos, K.M., Bryan G.J., Collins A.J. and Gale M.D. 1995. Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers. *Theor. Appl. Genet*. 90: 247-252.

Di Rienzo A., Donnelly A., Toomajian P., Sisk C., Hill B., Petzl-Erler A., Haine M.L., G.K, and Barch D.H. 1998. Heterogeneity of Microsatellite Mutations Within and Between Loci, and Implications for Human Demographic Histories. *Genetics* .148: 1269-1284.

Di Rienzo, A., Peterson A.C., Garza J.C., Valdes A.M., Slatkin M. and Freimer N.B. 1994. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 3166-3170.

Dice, L. R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*. 26: 297-302.

Domini, P., Law J.R., Koebner R.M.D., Reeves J.C. and Cooke R.J. 2000. Temporal trends in the diversity of Uk wheat, *Theor. Appl. Genet*. 100: 912-917.

Domini, P., Stephenson P., Bryan G.J., Koebner R.M.D. 1998. The potential of microsatellite for high throughput genetic diversity assessment in wheat and barley. Genet Res Cro Evol. 45: 415-421.

Dos Santos, T.M.M., Gananca F., Slaski J.J., Pinheiro de Carvalho M.A.A. 2008. Morphological characterization of wheat genetic resources from island of Mederia, Portugal. *Genet Resour Crop Evol*. 10.1007/s10722-008-9371-5.

Duvick, D.N. 1984. Genetic Diversity In Major Farm Crops On The Farm And In Reverse. *Economic Botany*. 38: 161-178.

Dweikat, I., Mackenzie S., Levy M. and Ohm H. 1993. Pedigree assessment using RAPD-DGGE in cereal crop species. *Theor. Appl. Genet*. 85: 497-505.

Eleuch, L., Jilal A., Grando S., Ceccarelli S., Schmising M.V.K., Tsujimoto H., Hajer A., Daaloul A., and Baum M. 2008. Genetic Diversity and Association Analysis for Salinity Tolerance, Heading Date and Plant Height of Barley Germplasm Using Simple Sequence Repeat Markers. *Journal integrative Plant Biology*. 8: 1004 - 1014.

Ellis, J.R.S. 1984. The Cereal Grain Trade In The United Kingdom The Problem Of Cereal Vaiety. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* V. 304: 395-407.

Ellis, R.P., McNicol J.W., Baird E., Booth A., Lawrence P., Thomas W.T.B. and Powell W. 1997. The use of AFLPs to examine genetic relatedness in barley. *Mol. Breed*. 3: 359-369.

Eleuch, L., Jilal A., Grando S., Ceccarelli S., Schmising M.K., Tsujimoto H., Hajer A., Daaloul A., Baum M. 2008. Genetic diversity and association analysis for salinity tolerance, heading date and plant height of barley germplasm using simple sequence repeat markers. *Journal of integrative plant biology*.50:1004-14

Eshghi, A.G. and Khalilzadeh G. 2006. Selection of durum wheat lines for drought resistance. 1st International conference of the theory and practices in biological water saving (ICTPB), Beijing, China. Pp. 63-64.

Ewart, J.A.D. 1990. Comments on recent hypothesis of glutenin. *Food Chem*. 38: 159-169.

Fahima, T., Sun G.L., Beharay A., Krugman T., Beiles A., and Nevo E. 1999. Rapd Polymorphism Of Wild Emmer Wheat Populations, Triticum Dicoccoides. *Theoritical And Applied Genetic*. 98:V 434-447.

Fernandez-Calvin, B. and Orellana J. 1990. High molecular weight glutenin subunit variation in the *Sitopsis* section of *Aegilops*. Implications for the origin of the B genome of wheat. *Heredity*. 65:455-463.

Figliuolo, G., Mazzeo M. and Greco I. 2007. Temporal variation of diversity in Italian durum wheat germplasm. *Genetic research and crop evolution*. 54: 615-6.

Figliuolo, G. and Perrino P. 2004. Genetic diversity and intra-specific phylogeny of Triticum turgidum L. subsp dicoccon (Schrank) Thell. revealed by RFLPs and SSRs . *Genetic Resources And Crop Evolution.* 51: 519-527

Frankel, O.H., and Soule M.E. 1981. Conservation and Evolution. Cambridge: Cambridge University Press.

Fufa, H., Baenziger P. S., Beecher I., Dweikat V., Graybosh R.A., Eskridge K.M. 2005. Comparison Of Phenotypic And Molecular Marker-Based Classification Of Hard Red Winter Wheat Cultivars. *Euphytica*. 145: 133-146.

Ganal, M.W., Röder M.S. 2007. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding Book. Varshney & Tuberosa. ISBN: 9781402062964, Proof2.

Gianibelli, M.C. 1998. New proteins for improving wheat quality. University of Western Sydney: Sydney, Australia. (PhD thesis).

Gianibelli, M.C., Gupta R.B. and MacRitchie F. 2000. HMW and LMW subunits of glutenin of *Triticum tauschii*, the D genome donor to hexaploid wheat. Pages 139-145 in: Wheat Structure, Biochemistry and Functionality. J.P. Schofield, ed. R. Soc. Chem: Cambridge, UK.

Gill, B.S. 2004. International Genome Research on Wheat (IGROW). National wheat workers workshop. February 22-25, Embassy Suites KCI, Kansas City.

Goldstein D.B. and Pollock D.D. 1997. Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *J. Hered*. 88: 335–342.

Grain Gene, http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml

Graner, A., Ludwig W.F. and Melchinger A.E. 1994. Relationships among European barley germplasm: II. Comparison of RFLP and pedigree data. *Crop Sci.* 34: 1199-1205.

Gupta, M., Balyan H.S., Sharma P.C. and Ramesh B. 1998. Genetics and molecular biology of seed storage proteins in wheat. In: Genetics and Biotechnology in Crop Improvement. Gupta, P. K. (Ed.) Rastogi Publications, Meerut. pp. 126-157.

Gupta, P.K. and Varshney R.K. 1999. Molecular markers for genetic fidelity during micropropagation and germplasm conservation. *Curr. Sci*. 76: 1308-1310.

Gupta, P.K. and Varshney R.K. 2000. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113: 163-185.

Gupta, R. B. and MacRitchie F. 1994. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1* of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. *J. Cereal Sci*. 19: 19-29.

Gupta, R.B. and Shephered K.W. 1990a. Two-Step One-Dimensional Sds-Page Analysis Of Lmw Subunits Of Glutenin. I. Variation And Genetic Control Of The Subunits In Hexaploid Wheats. *Theo. App. Genet*. 80: 65-74.

Gupta, R.B., and Shepherd K.W. 1990b. Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutelin. 2. Genetic control of the subunits in species related to wheat. *Theor. Appl. Genet.* 80: 183-187.

Gupta, R.B., Singh N.K. and Shepherd K.W. 1989. The cumulative effect of allelic variation in LMW and HMW glutenin subunits on physical dough properties in progeny of two bread wheats. *Theor. Appl. Genet*.77: 57-64.

Hailu, F., Merker A. 2008. Variation in gluten strength and yellow pigment in Ethiopian tetraploid wheat germplasm. *Genet Resources Crop Evolution*. 55: 277-285.

Hamblin M.T., Mitchell S.E., White G.M., Gallego J., Kukatla R., Wing R.A., Andrew H. Paterson A.H. and Kresovich S. 2004 Comparative Population Genetics of the Panicoid Grasses: Sequence Polymorphism, Linkage Disequilibrium and Selection in a Diverse Sample of *Sorghum bicolor*. *Genetics* 167: 471-483.

Hamrick J.L. and Godt M.J.W. 1989. Allozyme diversity in plant species. In: Soltis D.E. and Soltis P.S. (eds), Isozymes in plant Biology. Dioscorides press, Washington D.C., USA, pp. 87-105.

Hamza S., Ben Hamida W., Rebaï A., Moncef Harrabi M. 2004. SSR-based genetic diversity assessment among Tunisian winter barley and relationship with morphological traits. *Euphytica* 135: 107-118.

Hao, C., Wang L., Zhang X., You G., Dong Y., Jia J., Liu Xu., Shang X., Liu S., Cao Y. 2006. *Science in China*. 49: 218-226.

Harding R.M., Boyce A.J. and Clegg J.B. 1992. The evolution of tandemly repetitive DNA: recombination rules. Genetics 132: 847-859.

Harlan J.R. 1970. Genetic resources in plants Frankl and Bennett (eds), Roma Italy.24: 843-846.

Harlan, J.R. and de Wet J.M.J. 1972. A simplified classification of cultivated Sorghum. *Crop Sci* . 12: 172–176.

Hatzopoulos, P., Banilas G., Giannoulia K., Gazis F., Nikoloudakis N., Milioni D. and Haralampidis K. 2002. Breeding, Molecular Markers And Molecular Biology Of The Olive Tree. *Eur J Lipid Sci Technol*. 104: 574–586.

Henderson, S.T. and Petes T.D. 1992. Instability of simple sequence DNA in Saccharomyces cerevisiae. *Mol Cell Biol*. 12(6): 2749-2757.

Higuchi R., Von Beroldingen C.H., Sensabaugh G.F. and Erlich H.A. 1988. DNA typing from single hairs. *Nature*. 332: 543-546.

Hillman, G., Hedges R., Moore A., Colledge S. and Pettitt P. 2001. New evidence of Lateglacial cereal cultivation at Abu Hureyra on the Euphrates . The Holocene, 4: 383-393.

Hodgkin, T., Roviglioni R., De Vicente M.C. and Dudnik N. 2001. Molecular methods in the conservation and use of plant genetic resources. In: Dor`e, Dosba & Baril (Eds.) Proceedings of the International Symposium on Molecular Markers, ISHS. *Acta Horticulturae*, 546: 107-118.

Huang, X.Q., Borner A., Röder M.S., Ganal M.W. 2002. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet*. 105: 699-707.

Huang, X.Q.H., Cöster, M.W. Ganal and M.S. Röder. 2003. Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet*. 106: 1379-1389.

Huebner, F.R. and Wall J.S. 1976. Fractionation and quantitative differences of glutenin from wheat varieties varying in baking quality.*Cereal Chem.* 53: 258-269.

Huguet-Robert, V., Dedryver F., Röder M.S., Korzun V., Abélard P., Tanguy A.M., Jaudeau B. and Jahier J. 2001. Isolation of a chromosomally engineered durum wheat line carrying the *Aegilops ventricosa Pch1* gene for resistance to eyespot Genome, 44: 345-349.

Jaccard, P. 1908. Nouvelles Recherches Sur La Distribution Florale. Bull Soc Vaud Sci Nat. 44: 223-270.

Jackson, E.A., Holt L.M. and Payne P.I. 1983. Characterisation of high-molecular-weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and chromosomal localisation of their controlling genes. Theor. *Appl. Genet.* 66: 29-37.

Jakobson, I., Peusha H., Timofejeva L. and Järve K. 2006. Adult plant and seedling resistance to powdery mildew in a *Triticum aestivum* × *Triticum militinae* hybrid line. *Theor. Appl. Genet.* 112: 760-769.

Janssen, P., Coopman R., Huys G., Swing J., Bleeker M., Vos P., Zabeau M. and Kersters K. 1996. Evaluation of the DNA fingerprinting method AFLP as a new tool in bacterial taxonomy. *Microbiology.* 142: 1881-1893.

Johansson, E., Henriksson, P., Svensson, G. And Heneen W.K. 1993. Detection, Chromosomal Location And Evaluation Of The Functional Value Of A Novel High M_r Glutenin Subunit Found In Swedish Wheats. J. *Cereal Sci.* 17: 237-245.

Joshi, C.P. and Nguyen H.T. 1993. RAPD (random amplified polymorphic DNA) analysis based intervarieteal genetic relationships among hexaploid wheats. *Plant Sci.* 93: 95-103.

Kalendar, R., Grob T., Regina M., Suoniemi A. and Schulman A.H. 1999. IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theor. Appl. Genet.* 98: 704-711.

Kanazawa, H. and Yonezawa D. 1973. Studies on polypeptide composition of low molecular weight glutenin. *J. Agric. Chem. Soc.* Japan. 47: 17-22.

Kapila, R.K., Yadav R.S., Plaha P., Rai K.N., Yadav O.P., Hash C.T. and Howarth C.J. 2008. Genetic diversity among pearl millet maintainer susing microsatellite markers. *Pant Breeding*. 127: 33-37.

Karagös A. and Zencirci N. 2005. Variation in wheat (*Triticum* ssp.) Landraces form different altitudes of three regions of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 52: 775-785.

Karagös, A., Pilanali N. and Plot T. 2006. Agro-Morphological characterization of some wild wheat (*Aegilops* L. and *Triticum* L.) species. Turk Agric For 30: 387-398.

Kashif, M. and Khaliq I. 2004. Heritability, correlation and path coefficient analysis for some metric traits in wheat. Int. *J. Agri. Biology*. 6(1): 138-142.

Khan, I.A., Awan F.S., Ahmad A., Fu Y.B. and Iqbal A. 2005. Genetic diversity of Pakistan wheat germplasm as revealed by RAPD markers. *Genetic resources and crop evolution*. 52: 239-244.

Khlestkina, E.K., Röder M.S., Efremova T.T., Börner A. and Shumny V.K. 2004. The genetic diversity of old and modern Siberian variaties of common spring wheat as determined by microsatellite markers. *Plant Breed*. 123: 122-127.

Kihara, H. 1944. Discovery of the DD-analyser, one of the ancestor of vulgare wheats. *Agriculture and Horticulture* (Tokyo). 19: 889-890.

King R.C., and Stansfield W.D. 1990. A dictionary of genetics. 4th ed., Oxford university Press, New York-Oxford, pp. 188.

Koebner, R.M.D., Donini. P., Reeves J.C., Cooke. R.J. and Law J.R. 2003. Temporal flux in the morphological and molecular diversity of UK barley Theor. *Appl Genet*. 106: 550-558.

Korzun, V., RoK der M.S., Ganal M.W., Worland A.J. and Law C.N. 1998. Genetic analysis of the dwarfin gene (*Rht8*) in wheat. I.Molecular mapping of the *Rht8* on the short arm of chromosome 2Dof bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet*. *96*: 1104-1109.

Kuhlman, L.C., Burson B.L., Klein P.E., Klein R.R., Stelly D.M., Price H.J. and Rooney W.L. 2008. Genetic recombination in Sorghum bicolor x S. macrospermum interspecific hybrids. *Genome*. 51: 749-756.

Kumar, M., Luthra O.P., Yadav N. R., Chaudhary L., Saini N., Kumar R., Sharma I. and Chawla V. 2007. Identification of micro satellite markers on chromosomes of bread wheat showing an association with karnal bunt resistance . *African Journal of Biotechnology*. 6: 1617-1622.

Laemmli, U.K. 1970. *Cleavage Of Structural Proteins During The Assembly Of The Head Of Bacteriophage T4*. *Nature*. 227: 680-685.

Lage J., Warburton M.L., Crossa J., Skovmand B., Andersen S.B. 2003. Assessment of genetic diversity in synthetic hexaploid wheats and their *Triticum dicoccum* and *Aegilops tauschii* parents using AFLPs and agronomic traits. *Theoritical And Applied Genetics*. 134: 305-317.

Lagudah, E.S. and Halloran G.M. 1988. Phylogenetic relationships of *Triticum tauschii* the D genome donor to hexaploid wheat. 1. Variation in HMW subunits of glutenin and gliadins. *Theor. Appl Genet*. 75: 592-598.

Lagudah, E.S., Appels, R., Brown, A.H.D. and McNeil D. 1991. The molecular-genetic analysis of *Triticum tauschii*, the D-genome donor to hexaploid wheat. *Genome*. 34: 375-386.

Lande, R. and Thompson R. 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics*. 124: 743-756

Landjeva, S., Korzum V. and Ganeva G. 2006. Evaluation of genetic diversity among Bulgarian winter wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties during the period 1925-2003 using microsatellites. *Genet Resour Crop Evol*. 53: 1605-1614.

Lanning, S.P., Carlson G.R., Nash D., Wichman D.M., Kephart K.D., Stougaard R.N., Kushnak G.D., Eckhoff J.L., Grey W.E. and Talbret L.E. 2004. Registration of Choteau wheat. *Crop Science*. 44: 2264-2265.

Law J.R., Donini P., Koebner R.M.D., Reeves J.C. and Cooke R.J. 2004. DNA profiling and plant variety registration. III: The statistical assessment of distinctness in wheat using amplified fragment length polymorphisms. *Euphytica*. 102: 335-342.

Lawrence, G.J. and Shepherd K.W. 1981. Inheritance of glutenin protein subunits of wheat. Theor. *Appl. Genet*. 60: 333-337.

Lee, Y.K., Bekes F., Gupta R., Appels R. and Morell M.K. 1999. The low-molecular-weight glutenin subunit proteins of primitive wheats. I. Variation in A-genome species. *Theor. Appl. Genet.* 98: 119-125.

Lelley, T., Stachel M., Grausgruber H. and Vollmann. J. 2000. Analysis of relationships between *Aegilops tauschii* and the D genome of wheat utilizing microsatellites. *Genome*. 43(4): 661-668.

Levinson G. and Gutman G.A. 1987. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol. Biol. Evol*. 4: 203–221.

Lin F., Xue S.L., Zhang Z.Z., Zhang C.Q., Kong Z.X., Yao G.Q., Tian D.G., Zhu H.L., Li C.J., Cao Y., Wei J.B., Q.Y. Luo Q.Y. and Ma Z.Q. 2006. Mapping QTL associated with resistance to Fusarium head blight in the Nanda2419 × Wangshuibai population. II: Type I resistance. *Theor. Appl. Genet*.112: 528-535.

Linn, J.J., Kuo J., Ma J., Saunders J.A., Beard H.S., MacDonald M.H., Kenworthy W., Ude G. N. and Matthews B. L. (1996). Identification of molecular markers in soybean: comparing RFLP, RAPD and AFLP DNA mapping techniques. *Plant Mol. Biol. Rep*. 14: 156-169.

Litt, M. and Luty J.M. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet*. 44: 397–401.

Liu J., Liu L., Hou N., Zhang A. and Liu C. 2006 Genetic diversity of wheat gene pool of recurrent selection assessed by microsatellite markers and morphological traits. *Euphytica*. 155: 249-258

Liu X., Smith C. and Gill B. 2002. Identification of microsatellite markers linked to Russian wheat aphid resistance genes Dn4 and Dn6. *Theor. Appl. Genet.* 104: 1042-1048

Maccaferri, M., Sanguineti M.C., Donini P. and Tuberosa R. (2003). Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. *Theor.Appl. Genet.* 107: 783–797.

MacRitchie, F. 1992. Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. Adv. *Food Nutr. Res*. 36: 1-87.

Malysheva-Otto, L., Ganal M.W., and Röder M.S. 2006. Analysis of molecular diversity, population structure and linkage disequilibrium in worldwide survey of cultivated barley germplasm (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Genetics* 7:6.

Manifesto, M.M., Schlatter A. R., Hopp H. E., Suarez E. Y. and Dubcovsky J. 2001. Quantitative Evaluation of Genetic Diversity in Wheat Germplasm Using Molecular Markers. *Crop Science* 41:682-690

Margiotta, B., Urbano M., Colaprico G., Johansson E., Buonocore F., D'ovidio R. and Lafiandra D. 1996. Detection Of Y Type Subunit At The *Glu-A1* Locus In Some Swedish Bread Wheat Lines J. *Cereal Sci*. 23: 203-211.

Marić, S., Bolarić S., Martinčić J., Pejić I. and Kozumplik V. 2004. Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. *Plant breeding*. 123: 366-369.

Markert CL, Moller D 1959. Multiple forms of enzymes: Tissue onto genetic and species patterns. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 45: 753-763. (Abstract)

Masci, S., Lafiandra D., Porceddu E., Lew E. J.-L., Tao, H.P. and Kasarda D.D. 1993. D-glutenin subunits: N-terminal sequences and evidence for the presence of cysteine. *Cereal Chem*. 70: 581-585.

McDonald, D.B. and Potts W.K. 1997. DNA microsatellites as genetic markers for several scales. In: Mindell DP (ed.) Avian molecular evolution and systematics. Academic Press, San Diego, USA. pp. 29-49.

McFadden, E.S. and Sears E.R. 1946. The origin of *Triticum spelta* and its free threshing hexaploid relatives. *Journal of Heredity*. 37: 81-89.

McIntosh, R.A., Hart G.E. and Gale M.D. 1994. Catalogue of gene symbols for wheat (supplement). Ann. *Wheat Genet. News*. 40: 362-375.

Mechan, D.K., Kasarda D.D. and Qualset C.O. 1978. Genetic Aspects Of Wheat Giadin Proteins. *Biochem. Genet*. 16: 831-853.

medical-dictionary. *http://medical-dictionary.thefreedictionary.com*

Melchinger, A.E., Graner A., Singh M. and Messmer M. 1994. Relationships among European barley germplasm: I. Genetic diversity among winter and spring cultivars revealed by RFLPs. *Crop Sci*. 34: 1191-1199.

Metakovsky, E.V. And Branland G. 1998. Genetic Diversity Of French Common Wheat Germplasm Based On Gliadin Allelles. *Theoritical And Applied Genetics*. 96: 209-218.

Metakovsky, E.V., Novoselskaya A.Y. and Sozinov A. A. 1984. Genetic analysis of gliadin components in winter wheat using two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theor. Appl. Genet*. 69: 31-37

Miklos, G.L.G. and Rubin G.M. 1996. The role of the genome project in determining gene function: Insights from model organisms. *Cell*. 86: 521-529

Miller, T.E. 1987. Systematics and evolution . In: Wheat breeding, Chapman and Hall Ltd, University Press, Cambridge, UK. Edited by FGH Lupton. pp 1-30.

Mir Ali, N. 1987. Protein Improvement In *Triticum Turgidum Var. Durum* (Desf.) By Induced Mutations And Hybridization With *Triticum Turgidum Var. Dicoccoides* (Korn.). the University Of Newcastle, Uk. (Ph.D Thesis).
Mir Ali N. 1995. Performance of high-protein mutant lines of *Triticum aestivum* (L.) under semi-arid conditions of Syria. *Field Crops Research.*41:101-108.

Mir Ali, N. 2002a. *Gliadins* Composition And Cluster Analyses Of Syrian Grown Durum Wheat. *Plant Breeding & Seed Science*. 46: 51-62.

Mir Ali, N. 2002b. Cluster Analysis Of Syrian Grown Bread Wheat Genotypes Based On Gliadin Composition. *J.Genet.& Breed*. 56: 177-183.

Mir Ali, N., 2000. Heterogenity Within Old And Modern Durum And Bread Wheat Grown In Syria Using The A-Page And Sds-Pae Electrophoresis Techniques. *Plant Varieties & Seeds*. 13: 149-157.

Mir Ali, N., Arabi M. I. E. and Al-Safadi B. 1999a. High Molecular Weight Glutenin Subunits Composition Of Syrian Grown Bread Wheat And Its Relationships With Gluten Strength. *J. Genetics & Breeding*. 53: 237-245.

Mir Ali, N., Arabi M. I. E. and Al-Safadi B. 1999b. Frequencies Of High And Low Molecular Weight Glutenin Subunits In Durum Wheat Grown In Syria. *Cereal Research Communications*. 27: 301-305.

Miranda, L. 2006. Resistance to powdery mildew in wheat germplasm with different resistance sources. A dissertation submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy. University of Georgia. (Ph.D Thesis).

Moghaddam, M.E., Trethowan R.M., William H.M., Rezai Arzani A. 2005. Assessment of genetic diversity in bread wheat genotypes for tolerance to drought using AFLPs and agronomic traits. *Euphytica*. 141: 147-156.

Mohan, M., Nair S., Bhagwat A.,. Krishna T.G, Yano M., Bhatia C.R. and Sasaki T. 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular breed*. 3: 87-103.

Moore, G., Abbo S., Cneung W., Foote T., Gale M., Koebner R. Leitch A., Leitch I., Money T., Stancombe P., Yano M. and Flavell R. 1993. Key features of cereal genome organization as revealed by the use of cytosine methylation-sensitive restriction endonucleases. *Genomics*. 15: 472-482.

Morris, R. and Sears E.R. 1976. The cytogenetics of wheat and its relatives. *In:* Wheat and wheat improvement. American Society of Agronomy Inc, Madison, Wisconsin USA. Edited by KS Quensberry and LP Reitz. pp 19-87.

Mullis, K., Faloona S., Scharf S, Saiki R., Horn G. and Erlich H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. Cold spring Harbor Symp. *Quant. Biol*. 51: 263-273.

Nagaoka, T. and Ogihara Y. 1997. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphism in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet* 94: 597-602.

Nakamura, Y., Leppert M., O'Connell P., Wolff R., Holm T., Culver M., Martin C., Fujimoto E., Hoff M., Kumlin E. and White R. 1987. Variable number tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science*. 235: 1616-1622

Naserian, B., Asadi A., Masood R. and Ardakani M.R. 2007. Evaluation of wheat cultivar mutants for morphological and yield traits and comparing of yield components inder irrigated and rain fed conditions. *Asian journal of Plant Sciences*. 6: 214-224.

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Naturalist*. 106: 283-292.

Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc Natl Acad Sci USA. 70: 3321-3323.

Nielsen, H.C., Beckwith A.C. and Wall J. S. 1968. Effect of disulphidebond cleavage on wheat gliadins fractions obtained by gel filtration.*Cereal Chem*. 45: 37-47.

Omar, M.A., Shalaby E.E., Kassem A.A. and Abdelbary A.A. 1997. Variation, Heritability, correlation, and predicted gains from selection in wheat (*T. aestivum*) J. *Agric.Res*. 27:159-163.

Orford, S.E., Law J.R., Ganal M., Koebner R.M.D. 2006. Has modern breeding led to a genetic narrowing in European winter wheat? In: Börner A, Pankova K, Snape JW (eds).

Osborne, T.B. 1907. The Proteins Of The Wheat Kernel. Carnegie Inst., Wash. Publ. No. 84.

Pagnotta, M.A., Mondini L. and Atallah M.F. 2005. Morphological and molecular characterization of Italian emmer wheat accessions. *Euphytica*. 146: 29-37

Paniego, N.B., Munoz M., Echaide M., Fernadez L., Faccio P., Zandomeni R., Suarez E. and Hopp E. 1999. Microsatellite development for sunflower. In: International plant and animal genome VII conference: Abstract P464, 17th-21st Jan. San Diego, CA.

Paniego, N., Eschaide, M., Munoz, M., Fernandez, L., Torales, S., Faccoi, P., Fuxan, I., Carrera, M., Zandomeny, R., Suarez, E., and Hopp, H., 2002. Microsatellite isolation and characterization in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Genome 45: 34-43.

Payne, P. I. and Lawrence G.J. 1983. Catalogue Of Alleles For The Complex Loci, Glu-A1, Glu-B1 And Glu-D1 Which Code For High Molecular Weight Subunits Of Glutenin In Hexaploid Wheat. *Cereal Research Communication*. 11: 29-35.

Payne, P. I., Law C. N. and Mudd E. E. 1980. Control by homoeologous group 1 chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm. *Theor. Appl. Genet*.58: 113-120.

Payne, P.I., Corfield K.G. and Blackman J.A. 1979. Identification of a high-molecular-weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree. *Theor. Appl. Genet.* 55: 153-159.

Payne, P.I., Corfield K.G., Holt L.M. and Blackman J.A. 1981. Correlations Between The Inheritance Of Certain High Molecular Weight Subunits Of Glutenin And Bread Making Quality In Progenies Of Six Crosses Of Bread Wheat. *Journal Of Science Of Food And Agriculture.* 32: 51–60.

Payne, P.I., Holt L M., Jarvis M.G. and Jackson E.A. 1985. Twodimensional fractionation of the endosperm proteins of bread wheat (*Triticum aestivum*): Biochemical and genetic studies. *Cereal Chem.* 62: 319-326.

Payne, P.I., Holt L.M., Jackson E.A., Law C.N. 1984. Wheat Storage Proteins:Their Genetics And Their Potential For Manipulation By Plant Breeding. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 304: 359-371.

Payne, P.I., Nightingale M.A., Krattiger A.F. and Holt L.M. 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties*.* *J. Sci. Food Agric.* 40: 51-65.

Peng, J., Ronin Y., Fahima T., Röder M.S., Li Y., Nevo E. and korol A. 2003. Domestication quantitative trait loci in Triticum dicoccoides, the progenitor of wheat. Proc Natl Acad Sci. USA. 100: 147-159.

Piergiovanni, A.R., Laghetti I.G. and Perrino' P. 1996. Characteristics of Meal from Hulled Wheats *(Triticum dicoccon* Schrank and T *spelta* L.): An Evaluation of Selected Accessions. *Cereal Chem.* 73: 732-735

planetark.com, http://www.planetark.com/dailynewsstory.cfm/newsid/44968/story.htm.

Plaschke, J., Ganal M.W. and Röder M.S. 1995. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 91: 1001-1007.

Pogna, N.E., Autran J.C., Mellini F., Lafiandra D. and Feillet P. 1990. Chromosome 1b-Encoded Gliadins And Glutenin Subunits In Durum Wheat: Genetics And Relationship To Gluten Strength. *Journal Of Cereal Science*. 11: 15-34.

Pogna, P.E., Metakovsky E.V., Redaelli R., Rainer F. and Dachkevitch T. 1993. Recombination Mapping Of Gli-5, A New Gliadin-Coding Locus On Chromosomes 1a And 1b In Common Wheat. *Theor.And A Ppl. Genet*.87: 359-371.

Popineau Y., Cornec M., Lefebvre J. and Marchylo B. 1994. Influence of high *M*r glutenin subunits on glutenin polymers and rheological properties of glutens and gluten sub-fractions of near-isogenic lines of wheat Sicco. *J. Cereal* Sci. 19:231-241.

Porceddu, E., Tuechetta T., Masci S., D'ovidio R., Lafiandra D., Kasarda D.D., Impiglia A. and Nachit M.M. 1998. Variation In Endosperm Protein Composition And Technilogical Quality Properties In Durum Wheat. *Euphytica*. 11: 197-205.

Powell W., Baird E., Handley L.L., Robinson D., Scrimgeour C.M., Nevo E., Hackett C.A., Caligari P.D.S. and Forster B.P. 1997. AFLP variation in wild barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch) with reference to salt tolerance and associated ecogeography. *Genome*. 40: 332-341.

Prasad, M., Varshnev R.K., Roy J.K., Balyan H.S. and Gupta P.K. 2000. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theor. Appl. Genet*. 100: 584-592.

Provan, J., Waugh R. and Powell W. 1996. Microsatellite analysis of relationships within cultivated potato (*Solanum tuberosum*). *Theor. Appl. Genet*. 92: 1076-1084.

Queller, D.C., Strassman J.E. and Hughes C.R. 1993. Microsatellites and Kinship. *Trends Ecol Evol*. 8: 285-288.

Rafalski, J.A. and Tingey S.V. 1993. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. *Trends Genet*. 9: 275-280.

Ram, S., Jain N., Dawar V., Singh R.P. and Shoran J. 2005. Analysis Of Acid-Page Gliadin Pattern Of Indian Wheats (Triticum Aestivum L.) Representing Different Environments And Periods. *Crop Science* . 45: 1256-1263.

Redaelli, R.P.K., Ng W., Pogna N.E. 1997. Allelic Variation At The Storage Protein Loci Of 55 Us-Grown White Wheats. *Plant Breeding*. 116: 429-436.

Ridout, C.J. and Donini P. 1999. Use of AFLP in cereals research. *Trends Plant Sci*. 4: 76-79.

Röder, M.S., Korzum V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leory P., Ganal M.W. 1998. A microsatellite map in wheat. *Genetics*. 149: 2007-202.

Röder, M.S., Wendehake K., Korzum V., Bredemeijer G., laborite D., Bertrand L., Isaac P., Rendell S., Jackson J., Cooke R.J., Vosman B., Ganal M.W. 2002. Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat varieties. *Theor. Appl. Genet*. 106: 67-73.

Rodriguez-Quijano, M., Nieto-Taladriz M.T. and Carrillo J.M. 1997. Variation in B-LMW glutenin subunits in einkorn wheats. *Genet. Resour. Crop Evol*. 44: 539-543.

Rohlf, F.J. 2002. Numerical taxonomy and multivariate abalysis system. NTSYS version 2.11a. Applied Biostatistics Inc., New York, Stony Brook. N.Y., USA.

Roldán-Ruiz I., van Euwijk F.A., Gilliland T.J., Dubreuil P., Dillmann C., Lallemand J., De Loose M., Baril C.P. 2001. A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (Lolium perenne L.) varieties. *Theoretical And Applied Genetics*. 103: 1138-1150

Roussel, J., Koenig M., Beckert M., Balfourier F. 2004. Molecular diversity in French bread wheat accessions related to temporal trends and breeding programmes. *Theor. Appl. Genet*. 108: 920–930.

Roy, J.K., Lakshmikumaran, M. S., Balyan, H. S., Gupta, P. K. 2004. AFLP-Based Genetic Diversity and Its Comparison With Diversity Based on SSR, SAMPL, and Phenotypic Traits in Bread Wheat. *Biochemical Genetics.* 42:44-59.

Roy, J.K., Bandopadhyay R., Rustgy S., Balyan H.S. and Gupta P.K. 2006. Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. *Current Science*. 90: 683-689.

Russell, J.R., Fuller J.D., Macaulay M., Hatz B.G., Jahoor A., Powell W. and Waugh R. 1997. Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor. Appl. Genet*. 95: 714-722.

Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T., Erlich H.A. and Arnheim N. 1985. Enzymatic amplification of b-globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 230: 1350-1354

Saleem U., Khaliq I. and Mahmood T. 2006. Phenotypic and genotypic correlation coefficients between yield and yield components in wheat. *J. Agric. Res.* 44: 1-8.

Sapirstein, H.D. and Bushuk W. 1985. Computer-Aided Analysis Of Gliadin Electrophoregrams. Ii. Wheat Cultivar Identification And Class Comparisons. *Cereal Chemistry*. 62: 377-292.

Satyavart A., Yadaya R.K. and Singh G.R. 2002. Variabilty and heritability estimates in bread wheat. *Environ. Ecol*. 20: 548-550.

Sax, K. 1932. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8: 552-560

Schlötterer, C., Ritter R., Harr B. and Brem G. 1998. High mutation rates of a long microsatellite allele in *Drosophila melanogaster* provides evidence for allele-specific mutation rates. *Mol. Biol. Evol*. 15: 1269-1274.

Schmidt, A.L., Liu C., Martin D., Kelly A., McIntyre L. 2004. Molecular Markers for Selected Quality Traits in Australian Hexaploid Bread Wheat. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress Brisbane, Australia.

Schut, J.W., Qi X. and Stam P. 1997. Association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. *Theor. Appl. Genet.* 95: 1161-1168.

Schut, W., Qi X. and Stam P. 1997. Association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. *Theoretical And Applied Genetics*. 95: 1161-1168

Schwengel, D.A., Jedlicka A.E., Nanthakumar E.J., Weber J.L. and Levitt R.C. 1994. Comparison of fluorescence-based semi-automated genotyping of multiple microsatellite loci with autoradiographic techniques. *Genomics.* 22: 46-54.

Shahid, F., Mohammad F. and Tahir M. 2002. Path coefficient analysis in wheat. *Sarhad J. Agric*. 18: 383-388.

Shewry, P.R. and Tatham A.S. 1997. Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal. Sci.* 25: 207-227.

Shewry, P.R., Halford N.G. and Tatham A.S. 1992. The high molecular weight subunits of wheat glutenin. *J. Cereal Sci*. 15: 105-120.

Shewry, P.R., Tatham A.S. and Halford N.G. 1999. The prolamins of the *Triticeae.* Pages 35-78 in: Seed Proteins. P. R. Shewry and R. Casey, eds. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands.

Shin, J.S., Chao S., Corpus L. and Blake T. 1990. A partial map of the barley genome incorporating restriction fragment length polymorphism, polymerase chain reaction, Isozyme and morphological marker loci. *Genome*. 33: 803-810

Shuaib, M., Zeb A., Ali Z., Ali W., Ahmad T. And Khan I. 2007. Characterization Of Wheat Varieties By Seed Storage Protein Electrophoresis. *African Journal Of Biotechnology*. 6 (5): 497-500.

Shuaib, M., Zeb A., Ali Z., ALI W., Ahmad T. and Khan I. 2007. Characterization of wheat varieties by seed storage protein electrophoresis. African Journal of Biotechnology. 6 (5): 497-500.

Siedler, H., Messmer M.M., Schachermayr G.M., Winzeler H., Winzeler M. and Keller B. 1994. Genetic diversity in European wheat and spelt breeding material based on RFLP data. *Theor. Appl. Genet*. 88: 994-1003.

Sing, S.P. and Diwivedi V. K. 2002. Character association and path analysis in wheat *Triticum aestivum* L.). *Agri. Sci. Digest*. 22(4): 255-257.

Singh, N.K. and Shepherd K.W. 1984. A new approach to studying the variation and genetic control of disulphide-linked endosperm proteins in wheat and rye. Pages 129-136 in: Proc. 2nd International Workshop of Gluten Proteins, A. Graveland and J. H. E. Moonen, eds. TNO: Wageningen, The Netherlands.

Singh, S., Guedira G.B., Grewal T., Dhaliwal H., Nelson J., Singh H. and Gill B. 2003. Mapping of a resistance gene effective against Karnal bunt pathogen of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 106: 287-292

Smith, D.B. and Flavell. R.B. 1974. The relatedness and evolution of repeated nucleotide sequences in the genome of some Gramineae species. *Biochem. Genet*. 12: 243-256

Smith, J. S. C. 1984. Genetic Variability Within U.S Hybrid Maize: Multivariate Analysis Of Isozyme Data. *Crop Science*. 24: 1041-1046.

Soleimani, V.D. Baum B.R. and Johnson D.A. 2002. AFLP and pedigree- based genetic diversity estimates in modern cultivars of durum wheat [*Triticum turgidum* L. subsp. *Durum* (Desf.) Husn.] *Theor. Appl. Genet*.104: 350-357.

Soller. M. and Beckmann J.S. 1983. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet*. 67: 25-33.

Sozinov, A.A., Poperelya F.A. and Stakanova A.I. 1974. Component structure of gliadin in F1 kernels. Nauchno-Tekhnicheskii Bull. VSGI. 23:45.

Spencer, D. 1984. The Physiological Role Of Storage Proteins In Seeds. Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London. Series B. 304: 275-285.

St Amand, P., Guttieri M.J., Hole D., Chen X., Brown-Guediera G. and Souza E.J. 2005. Preliminary QTL Analysis Of Dwarf Bunt And Stripe Rust Resistance In A Winter Wheat Population. Plant and Animal Genome Meetings, San Diego, CA.

Stachel, M., Lelley T., Grausgruber H. and Vollmann J. 2000. Application of microsatellite in wheat (*Triticum aestivum* L.) for studying genetic differentiation caused by selection for adaptation and use . *Theor. Appl. Genet*. 100: 242-248.

Stephenson, P., Brayan G., Kirby J., Collins K., Devos K., Busso C., Gale M. 1998. Fifty new microsatellite loci for the wheat genetic map. *Theor. Appl. Genet* .97: 946-949.

Sutka J. and Kovacs G. 1987._Chromosomal location of dwarfing gene Rht12 in wheat. *Euphytica*. 36: 521- 523.

Tachida, H. and Iizuka M. 1992. Persistence of Repeated Sequences That Evolve by Replication Slippage. *Genetics*. 131: 471-478.

Talbert, L.E., Smith L.Y. and. Blake N.K. 1998. More than one origin of hexaploid wheats is indicated by sequence comparison of low-copy DNA. *Genome* 41: 402-407.

Tamman, A.M., Ali S.A. and El-Sayed E.A.M. 2000. Phenotypic,genotypic correlation and path coefficient analysis in some bread wheat crosses. Assiut. *J. Agri. Sci.* 31(3): 73-85

Taramino, G. and Tingey S. 1996. Simple sequence repeats for germplasm analysis and mapping in maize. *Genome*. 39: 277-287.

Tautz , D. and Renz M. 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research* 12: 4127-4138.

Tautz, D., Trick M., Dover G.A. 1986. Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. *Nature*. 322: 652-656.

Tautz, D., and Schlöterer, C. 1994. Simple Sequences. *Current Opinion in Genetics & Development.*4:832-837.

Thompson, S., Bishop D.H.L., Tatham A.S. and Shewry P.R. 1994. Exploring disulphide bond formation in a low molecular weight subunit of glutenin using a baculovius expression system. in: Gluten Proteins 1993. Association of Cereal Research: Detmold, Germany. Pp. 345-355

Tinker, N.A., Fortin M.G. and Mather D.E. 1993. Random amplified polymorphic DNA and pedigree relationships in spring barley. *Theor. Appl. Genet*. 85: 976-984.

Ucdavis., http://ucdavis.edu.outreach/abc/new_tools_abc.htm.

Van Beuningen, L.T. and Busch R.H. 1997. Genetic diversity among North American spring wheat cultivars: III. Cluster analysis based on quantitative morphological traits. *Crop Sci.*37: 981-988.

Vasu, K., Singh H., Chhuneja P., Singh S. and Dhaliwal H.S. 2000. Molecular tagging of karnal bunt resistance genes of *Triticum monococcum* L. transferred to Triticum aestivum L. *Crop Improv.* 27(1): 33-42.

Virk, P.S., Ford Lioyd B.V., Jackson M.T., Pooni H.S., Clemeno T.P. and Newbury H.J. 1996. Predicting quantitative variation within rice germplasm using molecular markers. *Heredity* 76: 296-304

Vos, P., Hogers R., Bleeker M., Reijans T., Van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. and Zabeau M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23: 4407-4414.

Waines, J.G. and Payne P. I. 1987. Electrophoretic analysis of the highmolecular-weight glutenin subunits of *Triticum monococcum*, *T. urartu*,and the A genome of bread wheat (*T. aestivum*). *Theor. Appl. Genet.*74: 71-76.
Weaver, W. and Shannon C.E. 1949. The Mathematical Theory of Communication. Urbana, Illinois: University of Illinois. USA.

Wei, Y.M., Hou Y.C., Yan Z.H., Wu W., Zhang Z.Q., Liu D.C. and Zheng Y.L. 2005. Microsatellite DNA polymorphism divergence in Chinese wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces highly resistant to *Fusarium* head blight. *Appl. Genet.* 46: 3-9.

Wei, Y.M., Zheng Y.L., Liu C.D., Zhou H.Y., Lan J.X. 2000. Gliadin And Hmw- Glutenin Variation In *Triticum Turgidum* L. Ssp. *Tugidum* And *T. Aestivum* L. Landraces Native To Sichuan China. *Wheat Inf. Serv.*90: 13-20

Weir, B.S. 1989. Building trees with DNA sequences. *Biometric Bulletin.* 6(4): 21-23.

Welsh, J. and McClelland M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res. 18: 7213-7218.

Wexelsen, H. 1933. Linkage between quantitative and qualitative characters in barley. *Hereditas.* 17: 323-341.

wheat.pw.usda.gov, http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml.

White, J., Law J.R., MacKay I., Chalmers K.J., Smith J.S.C., Kilian A. and Powell W. 2008. The genetic diversity of UK, US and Australian cultivars of *Triticum aestivum* measured by DArT markers and considered by genome. *Theoretical and Applied Genetics.* 116: 439-453.

Wikipedia-the free encyclopedia, http:// Wikipedia-the free encyclopedia, /genetic_marker.

Williams, J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A. and Tingey S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Res.18: 6531-6535.

Williams, M.D.H.M., Peña R.J. and Mujeeb-Kazi A. 1993. Seed protein and isozyme variations in *Triticum tauschii (Aegilops squarrosa*). *Theor.Appl. Genet.* 87: 257-263.

Wolff, R.K., Plaeke R., Jeffreys A.J., and White R. 1991. Unequal crossing over between homologous chromosomes is not the major mechanisms involved in the generation of new alleles at VNTR loci. *Genomics* 5: 382-384.

Worland A.J. and Law C.N. 1986. In: The location of genes affecting height, day length insensivity and yellow rust resistance. Z. Pflanzenzuchtg. 96: 331-345.

Worland, A.J., Korzun V., Ganal M.W., RoK der M.S. and Law C.N. 1998. Genetic analysis of the dwaring gene (*Rht8*) in wheat. II. The distribution and adaptive signi"cance of allelic variants at the *Rht8* locus of wheat as revealed by microsatellite screening. *Theor Appl Genet.* 96: 1110-1120.

Worland, A.J., Law C.N. and Shakoor A. 1980. The genetical analysis of an induced height mutant in wheat. *Heredity*. 65: 61-71.

Worland, A.J., Law, C.N., Petrović, S. 1990 Height reducing genes and their importance to Yugoslavian winter wheat varieties. *Savremena poljoprivreda*, 38 (3-4): 245-258

Wrigley, C.W., Lawrence G.J. and Shepherd K.W. 1982. Association of glutenin subunits with gliadin composition and grain quality in wheat.Aust. *J. Plant Physiol.* 9: 15-30.

Wrigley, C.W., Manusu H.P., Paranerupasingham S. and Bekes F. 1996. Fractionation and characterisation of wheat gluten proteins by preparative electrophoresis in the Gradiflow. in: Gluten 96. C. W. Wrigley, ed. Melbourne: Australia. Pp. 350-352.

Wu, Z.S. and Tanksley S.D. 1993. Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. *Mol. Gen. Genet*. 241: 225-235.

Yang, G.P., Maroof M.A.S., Xu C.G., Zhang Q. and Biyashev R.M. 1994. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. *Mol. Gen. Genet*. 245: 187-94.

Yifru, T., Hammer k., Huang X.Q. and Röder M.S. 2006. Regional patterns of microsatellite diversity in Ethiopian tetraploid wheat accessions. *Plant Breeding*. 125: 125-130.

You, G.X., Zhang X.Y. and Wang L.F. 2004. An estimation of the minimum number of SSR loci needed to reveal genetic relationships in wheat varieties: Information from 96 random accessions with minimized genetic diversity. *Molecular breeding* 14: 397-406.

You, A., Lu, X., Jin, H., Ren, X., Liu, K., Yang, G., Yang, H., Zhu, L., and He, G. 2006. Identification of quantitative trait loci across recombinant inbred lines and testcross populations for traits of agronomic importance in rice. Genetics, **172**: 1287–1300.

Zaharieva, M., Dimov A., Stankova P., David J. and Monneveux P. 2003. Morphological diversity and potential interest for wheat improvement of three *Aegilops* L. species from Bulgaria. *Genetic resources and Crop Evolution* 50: 507-517.

Zhang, X.Y., Li L.F.H.M., Wang G.X., You G.X. and Dong y.s. 2002. An estimation of minimum Number of SSR alleles needed to reveal genetic relatioships in wheat varieties. I.Information from large-scale planted varieties and cornerstone breeding parents in Chinese wheat improvement and production. *Theor. Appl. Genet*. 106: 112-117.

Zheleva1, D., Todorovska E., Jacquemin J.M., Atanassov A., Christov N., Panayotov I. and Tsenov N. 2006. Allele distribution at microsatellite locus xgwm 261 marking the dwarfing gene *Rht*8 in hexaploid wheat from bulgarian and belgian gene bank collections and its application in breeding programs. *Biotechnol. & Biotechnol.* Eq. 20: 45-56.

ملحق (١)

صور نواتج الرحلان لتفاعل PCR للموقع الوراثي (xgwm408) والمرحلة ضمن جهاز الرحلان الكهربائي Automated Laser Florescence express sequencer من إنتاج شركة (Amersham Biosciences). وذلك ضمن الأصناف الطرية والقاسية المدروسة.

يلاحظ ضمن نموذج الرحلان مايلي:

١. يشكل كل سطر ناتج رحلان كل صنف على حدة .
٢. القمم الناتجة والمتغيرة الطول الجزيئي هي عبارة عن الأليلات الناتجة.
٣. القمم المتساوية والمرتبة تحت بعضها وتحمل نفس الطول الجزيئي هي الشاهد الداخلي Internal standard.
٤. السطر العلوي الأول والمتشكل من أربعة قمم هو عبارة عن الشاهد القياسي الخارجي External standard

ملحق (٢)البادئات المستخدمة

الجدول يظهر مواقع SSR المدروسة والبادئات المستخدمة في مضاعفتها إضافة لدرجة حرارة التحام كل بادئة بـــ DNA المدروس (Annealing temperature)

الجينوم A			
Microsatellite	البادئة اليسارية	البادئة اليمينية	درجة حرارة التحام البادئة
Xgwm 4	GCT GAT GCA TAT AAT GCT GT	CAC TGT CTG TAT CAC TCT GCT	55°
Xgwm 95	GAT CAA ACA CAC ACC CCT CC	AAT GCA AAG TGA AAA ACC CG	60°
Xgwm160	TTC AAT TCA GTC TTG GCT TGG	CTG CAG GAA AAA AAG TAC ACC C	60°
Xgwm192	GGT TTT CTT TCA GAT TGC GC	CGT TGT CTA ATC TTG CCT TGC	60°
Xgwm 357	TAT GGT CAA AGT TGG ACC TCG	AGG CTG CAG CTC TTC TTC AG	55°
Xgwm 459	ATG GAG TGG TCA CAC TTT GAA	AGC TTC TCT GAC CAA CTT CTC G	55°
Xgwm 614	GAT CAC ATG CAT GCG TCA TG	TTT TAC CGT TCC GGC CTT	60°
Xgwm 631			60°
Xgwm 698			60°
Xgwm 720			60°
الجينوم B			
Xgwm18	TGG CGC CAT GAT TGC ATT ATC TTC	GGT TGC TGA AGA ACC TTA TTT AGG	50°
Xgwm 46	GCA CGT GAA TGG ATT GGA C	TGA CCC AAT AGT GGT GGT CA	60°
Xgwm 67	ACC ACA CAA ACA AGG TAA GCG	CAA CCC TCT TAA TTT TGT TGG G	60°
Xgwm120	GAT CCA CCT TCC TCT CTC TC	GAT TAT ACT GGT GCC GAA AC	60°
Xgwm 408	TCG ATT TAT TTG GGC CAC TG	GTA TAA TTC GTT CAC AGC ACG C	55°
Xgwm 513	ATC CGT AGC ACC TAC TGG TCA	GGT CTG TTC ATG CCA CAT TG	60°
Xgwm 566	TCT GTC TAC CCA TGG GAT TTG	CTG GCT TCG AGG TAA GCA AC	60°
Xgwm 577	ATG GCA TAA TTT GGT GAA ATT G	TGT TTC AAG CCC AAC TTC TAT T	55°
Xgwm 619			50°
Xgwm 680			55°
Xtaglgap			60°

الجينوم D			
Xgwm 3	GCA GCG GCA CTG GTA CAT TT	AAT ATC GCA TCA CTA TCC CA	55°
Xgwm111	TCT GTA GGC TCT CTC CGA CTG	ACC TGA TCA GAT CCC ACT CG	55°
Xgwm 174	GGG TTC CTA TCT GGT AAA TCC C	GAC ACA CAT GTT CCT GCC AC	55°
Xgwm190	GTG CTT GCT GAG CTA TGA GTC	GTG CCA CGT GGT ACC TTT G	60°
Xgwm 232	ATC TCA ACG GCA AGC CG	CTG ATG CAA GCA ATC CAC C	55°
Xgwm 261	CTC CCT GTA CGC CTA AGG C	CTC GCG CTA CTA GCC ATT G	55°
Xgwm 325	TTT CTT CTG TCG TTC TCT TCC C	TTT TTA CGC GTC AAC GAC G	60°
Xgwm 337	CCT CTT CCT CCC TCA CTT AGC	TGC TAA CTG GCC TTT GCC	55°
Xgwm 349	GGC TTC CAG AAA ACA ACA GG	ATC GGT CGC TAC CAT CCT AC	55°
Xgwm 539	CTG CTC TAA GAT TCA TGC AAC C	GAG GCT TGT GCC CTC TGT AG	60°

ملحق(٣). المحاليل

١. **محلول ١:** محلول منظم للاستخلاص خاص باستخلاص الجلوتينين
  - ٢٠ مل غليسيرول
  - ١٢,٥ مل من مادة 1M Tris (PH=6.8)
  - 24.1 مل ماء مقطر
  - ٤ غ SDS
  - 20 مغ بيرونين

٢. **محلول ٢:** محلول منظم للرحلان خاص بترحيل الجلوتينين
  - ٧٠,٥ غ من مادة غلايسين
  - ١٥ غ من مادة تريس قاعدي Tris
  - 5 غ من مادة SDS
  - يضاف للمزيج السابق ٣٠٠ مل من الماء المقطر
  - تعدل درجة PH لتصبح ٨,٣ ويكمل الحجم إلى ٥ل

٣. **محلول ٣:** محلول صبغة أزرق الكوماسي

- ١ غ من مادة أزرق الكوماسي مذابة في ١٠٠مل ايثانول مطلق توضع في بيشر وتُغطى بورق قصدير ثم توضع على المحرك المغناطيسي طوال الليل ليذوب تماماً ثم يرشح بورق ترشيح.
- ١٠٠ غ من ثلاثي حمض الخل (TCA) تُحل في ٥٠-٦٠ ماء مقطر ويُكمل الحجم إلى ١٠٠ مل بعد ذوبان المادة.

٤. يؤخذ ٣٦ مل من محلول (TCA) ويضاف إليها ١٥ مل من محلول الصبغة المحضرة سابقاً ويكمل الحجم حتى ٣٠٠ مل

٥. **محلول٤:** محلول منظم للرحلان خاص باستخلاص الجليادين

- يوزن ٣١,٢٥ غ من مادة ألمنيوم لاكتات وتحل بـــ ١٠٠-٢٠٠ مل ماء مقطر
- توضع على المحرك المغناطيسي لحين ذوبان المادة
- يضاف ٥٠ مل من حمض اللبن (Lactic acid)
- المعايرة لدرجة الـــ PH لتصبح ٣,١
- يكمل الحجم حتى ٥٠٠ مل بالماء المقطر ثم يرشح المزيج بورق ترشيح ويحفظ بالبراد لمدة شهر.

٦. **محلول٥:** محلول استخلاص للمادة الوراثية DNA:

تحضر المحاليل التالية لحجم نهائي ١٠٠ مل:

- (Tris Hcl 1M): إضافة 15.7 غ من المادة إلى ١٠٠ مل من الماء المقطر المعقم ويتم ضبط درجة الحموضة (PH:8).
- (EDTA 0.5M): إضافة18.612 غ من المادة المادة إلى ١٠٠ مل من الماء المقطر المعقم ويتم ضبط درجة الحموضة (PH:8).
- (NaCl 2M): إضافة 11.688 غ من المادة إلى ١٠٠ مل من الماء المقطر المعقم.
- SDS ٢%: إضافة ٢٠ غ من المادة إلى ١٠ مل من الماء المقطر المعقم.

إضافة الحجوم التالية من كل محلول من المحاليل المحضرة ليتشكل لدينا محلول الاستخلاص النهائي:

٥ مل (Tris Hcl 1M)+٢ مل (EDTA 0.5M)+٥ مل (NaCl 2M)+ ١ مل ٢%.

٧. **محلول٦:** TBE(0.1 M Tris, 0.83 Mm boric acid, 1Mm EDTA, UV initiator and (denaturing agent

Summary

The understanding and studying of wheat genetic composition is considered the basic block for successful plant breeding programs which is relying more and more on new methodologies that are faster, more effective and reliable to produce improved cultivars with higher yield.

This research aimed at the identification of most important wheat genotypes available in Syria and of importance to the General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR), using morphological, biochemical and molecular characterization methods, and to compare the effectiveness and efficiency of these methods. In addition, the ability of some of these methods to detect the degree of homogeneity within the varieties was also performed. The research also aimed at studying Marker-trait association using General Linear Model (GLM) to investigate reciprocal effects between studied loci and morphological characters.

Results of the morphological characterization showed that the studied durum and bread wheat genotypes reflected a high percentage of variability within both groups of genotypes. A higher percentage of heterogeneity was also realized within local varieties as compared with the improved ones in both of durum and bread wheat varieties. When regression analysis was applied to the studied traits, significant differences were obtained in three characters (in both types of wheat) namely: number of grains per spike, one thousand grain weight and the weight of grains per spike. A significant correlation was evident between grain weight and number of grains (in both types of wheat) whereas, all other correlations whether positive or negative were not significant.

Regarding the biochemical characterization, both employed techniques i.e. A-PAGE and SDS-PAGE were able to show band variability among studied varieties with a total polymorphic bands of 25. The percentage of genetical variation was 56% and 100% for durum and bread wheat varieties respectively, and the dendrogram resulted showed two separate clusters according to the genome level *i.e.* the tetraploid level (durum wheat) and the hexaploid level (bread wheat). It was concluded that it is possible to use storage proteins as a useful indicator to characterize wheat cultivars, for genetic variability studies, to register new cultivars, and for pedigree testing.

On the other hand, the aforementioned methodology was employed to detect the homogeneity within three durum and three bread wheat cultivars by testing 48 grains from each cultivar. Results revealed presence of heterogeneity in all gliadin and glutenin loci in all tested cultivars except for glutenin loci in the bread wheat cultivars Buhouth6 and Soued. Heterogeneity was higher in gliadin loci than that of glutenins. Within the gliadins, ω- and γ- gliadins were the most heterogeneous followed by β- gliadins, whereas, α- gliadin was homogeneous with no single polymorphism being detected. As for glutenin loci, *GLU-B1* was the most heterogeneous followed by *GLU-D1* and *GLU-A1* with the latter being distinguished with the presence of null allele in all durum wheat studied except for the local variety Nab-al-Jamal which carried the allelic subunit 2*. All improved

durum and bread wheat varieties were characterized by a lower heterogeneity index (HetI) compared with the local varieties. It was concluded that in order to have the complete picture of storage protein heterogeneity, it is imperative to use both electrophoresis techniques.

As for the molecular characterization, the same cultivars were assayed using the SSR- PCR based technique. The used 32 microsatellites covered almost the whole wheat genome. The polymorphic information content (PIC) across the tested loci ranged from 0 to 0.88 with average values of 0.57 and 0.65 for durum and bread wheat respectively. B- genome had the highest mean number of alleles (10.91) followed by A- genome (8.3) whereas D- genome had the lowest number (4.73). The correlation between PIC and allele number was significant in all genome groups accounting for 0.87, 0.74 and 0.84 for A, B and D genomes respectively, and over all genomes, the correlation was higher in tetraploid (0.8) than in hexaploid wheat varieties (0.5). The cluster analysis discriminated all varieties and clearly divided the two ploidy levels into two separate clusters that reflect the differences in genetic diversity within each cluster. This study demonstrates that microsatellites markers have unique advantages compared to other molecular and biochemical fingerprinting techniques in revealing the genetic diversity in Syrian wheat varieties that is crucial for wheat improvement.

The three methods were compared for several indices to know the relative efficiency of each method in the characterization of the studied genotypes. The morphological characterization method attained highest similarity index value (0.51) followed by the biochemical characterization methods (0.49), whereas, the molecular characterization method attained the lowest value (0.264). In the contrary, the molecular characterization method attained highest value for the genetic diversity index (1.16) followed by the biochemical characterization methods (0.55) and the morphological characterization method (0.421). The resulted genetic distances from all three methods were subjected to regression analysis . Results showed that there was only one significant positive correlation (0.48) and this was between the biochemical and molecular methods, whereas, no significant correlation was obtained between morphological and the molecular characterization methods (0.039), nor between the biochemical and morphological characterization methods (-0.022).

At the end a marker-trait association analysis was performed using General Linear Model (GLM) to investigate reciprocal effects between studied loci and morphological characters. The studied 32 SSR loci were tested for its association with the eight different morphological characters (32 x 8= 248). Out of that number, only 83 associations were significant, of which 25 associations were within spike length, 24 within awn length, 12 within one thousand grain weight, 8 within number of grains per spike, 7 within number of spikelets, 6 within grain weight/spike, and 3 within plant height. As for empty spikelets, a single association was revealed between it and one locus.